



**ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
(ΑΤΕΙ) ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΩΝ ΩΧΡΑΤΟΞΙΝΟΓΟΝΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ ΣΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΣΤΑΦΥΛΙΟΥ.»



ΖΑΖΑΝΗΣ ΠΕΤΡΟΣ

ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2013



**ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (ΑΤΕΙ)
ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ
ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ



**«ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΗ
ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΤΩΝ ΩΧΡΑΤΟΞΙΝΟΓΟΝΩΝ
ΜΥΚΗΤΩΝ ΣΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΣΤΑΦΥΛΙΟΥ.»**

ΣΠΟΥΔΑΣΤΗΣ: ΖΑΖΑΝΗΣ ΠΕΤΡΟΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: Δρ. ΠΑΠΑΔΕΛΗ ΜΑΡΙΝΑ

ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2013

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Οφείλω να ευχαριστήσω την καθηγήτριά μου Μαρίνα Παπαδέλη γιατί χωρίς τη συμβολή της δεν θα μπορούσε να γίνει αυτή η εργασία καθώς και την καθηγήτριά μου Μαρία Παπαδοπούλου για τον πολύτιμο χρόνο της και τις σημαντικές πληροφορίες που μου παρείχε.

Τέλος θέλω να ευχαριστήσω τους γονείς μου για την ηθική και υλική τους υποστήριξη.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	6
ABSTRACT.	7
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.	8
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Η ΑΜΠΕΛΟΣ ΚΑΙ ΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΤΗΣ.....	9
1.1. Ταξινομικά στοιχεία.	9
1. 2. Βοτανικά χαρακτηριστικά	11
1. 3. Μυθολογία-Προϊστορία-Ιστορία - Ιστορική εξέλιξη. Γεωγραφική εξάπλωση και οικονομική σημασία της καλλιέργειας της.....	15
1.4. Ανάγκες της αμπέλου.....	18
1.5. Βιολογική καλλιέργεια της αμπέλου.....	20
1.6. Ευεργετικές ιδιότητες και διατροφική αξία σταφυλιών.	21
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΩΧΡΟΤΟΞΙΝΟΓΟΝΟΙ ΜΥΚΗΤΕΣ ΣΤΗΝ ΑΜΠΕΛΟ.....	25
2.1 Γενικά στοιχεία.	25
2.2 Προ και μετά συλλεκτικές μυκητολογικές ασθένειες σταφυλιών και μολύνσεις των προϊόντων τους.....	26
2.3 Ο ωχρατοξινογόνος μύκητας <i>Aspergillus carbonarius</i>	30
2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των ωχρατοξινογόνων μυκήτων.....	32
2.5 Μέθοδοι ανίχνευσης μυκοτοξινών.....	33
2.5.1 Γενικά.....	33
2.5.2 Στήλες ανοσοσυγγένειας.....	34
2.6 Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC).....	35
2.6.1 Εισαγωγή - Βασικές αρχές.....	35
2.6.2 Οργανολογία.....	36
2.6.3 Επίτευξη επιθυμητού διαχωρισμού	38
2.7 Προβλήματα που προκαλεί η ΩΤΑ σε ανθρώπους και ζώα.	39

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΛΗΨΗΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΩΝ	
ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ.....	40
A. Πρόληψη.....	40
3.1 Γενικές μέθοδοι.....	40
3.2 Καλλιεργητικές μέθοδοι.....	40
3.3 Αντιμετώπιση κατά τη συγκομιδή.....	42
3.4 Μετασυλλεκτικές μέθοδοι.....	42
3.4.1 Αποθήκευση και μεταφορά.....	42
3.4.2 Επεξεργασία.....	45
B. Αντιμετώπιση προβλημάτων.....	45
3.5 Γενικές μέθοδοι μείωσης ΩΤΑ.....	45
3.6 Φυσικές μέθοδοι.....	46
3.7 Χημικές μέθοδοι.....	47
3.7.1 Χημικές ενώσεις προσρόφησης	47
3.7.2 Αποδόμηση της ΩΤΑ ή εκχύλιση της με χημικούς Παράγοντες.....	48
3.8 Βιολογικός έλεγχος ωχρατοξινογόνων μυκήτων.....	48
3.8.1 Γενικά.....	48
3.8.2 Μείωση της ΩΤΑ από βακτήρια.....	51
3.8.3 Μείωση της ΩΤΑ από ζύμες.....	54
 ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΩΝ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΟΤΕΡΑ ΩΤΑ..	55
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	58
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	59

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η άμπελος είναι ένα παγκοσμίως εξαπλωμένο φυτό με μεγάλη σημασία για τον άνθρωπο. Κυρίως καλλιεργείται για την παραγωγή οίνου, ένα ποτό που καταναλώνεται από όλους τους ανθρώπους με ευεργετικές ιδιότητες αν γίνεται κατάποση με μέτρο. Όμως, παγκόσμιο σοβαρό πρόβλημα αποτελεί η μόλυνση των σταφυλιών από τον μύκητα *Aspergillus carbonarius* με συνέπεια την προσθήκη ωχρατοξίνης Α στα συστατικά του καρπού της αμπέλου. Η σοβαρότητα της προαναφερόμενης κατάστασης παροτρύνει την επιλογή αυτού του θέματος για την πτυχιακή μελέτη. Ο σκοπός της παρούσας εργασίας είναι μια βιβλιογραφική ανασκόπηση των τρόπων περιορισμού της μόλυνσης των σταφυλιών από τους ωχρατοξινογόνους μύκητες, έγκαιρης ανίχνευσης την ΩΤΑ και εφαρμογή τεχνικών ώστε να μειωθεί αν όχι να εξαλειφθεί από τα προϊόντα που προέρχονται από τα σταφύλια και να μην εισχωρεί η τόσο τοξική για τον άνθρωπο ΩΤΑ στον οργανισμό των ανθρώπων.

Έτσι, λοιπόν στο πρώτο κεφάλαιο της παρούσας εργασίας αναλυτικά περιγράφονται τα μορφολογικά και ταξινομικά χαρακτηριστικά της αμπέλου, οι ευεργετικές ιδιότητες και η διατροφική αξία σταφυλιών. Επίσης συνοπτικά περιγράφονται οι καλλιεργητικές φροντίδες για την υγιεινή ανάπτυξη του φυτού.

Ακολουθεί το δεύτερο κεφάλαιο όπου δίνεται αναλυτική περιγραφή των ωχρατοξινογόνων μυκήτων, και των παραγόντων που επηρεάζουν την ανάπτυξη τους. Αναφέρονται οι προ και μετά συλλεκτικές μυκητολογικές ασθένειες σταφυλιών και οι μολύνσεις των προϊόντων τους, και ασφαλώς οι μέθοδοι ανίχνευσης μυκοτοξινών.

Οι τρόποι πρόληψης και αντιμετώπισης των προβλημάτων που προκαλούν οι ωχρατοξινογόνοι μύκητες είναι συγκεντρωμένοι στο τρίτο κεφάλαιο της πτυχιακής μελέτης.

Η πτυχιακή ολοκληρώνεται με το τέταρτο κεφάλαιο το οποίο είναι αφιερωμένο στην νομοθετική πλευρά της υπόθεσης.

ABSTRACT

The grapevine is a globally spread plant of great importance to humans. Mainly grown for wine, a beverage consumed by all people with beneficial properties if it gets ingested in moderation. But serious global problem is the contamination of the grapes from the fungus *Aspergillus carbonarius* is consistently adding OTA to constituents of the fruit of the vine. The seriousness of the situation described above urge the choice of this topic for the thesis research. The purpose of this paper is a literature review of ways to reduce the contamination of grapes by ochratoxinogenous fungi, early detection OTA and the application of techniques to reduce if not eliminate from products derived from grapes and not to penetrate the so toxic OTA in the body of humans.

So then the first chapter of this paper described in detail the morphological and taxonomic characteristics of the vines, the beneficial properties and nutritional value of grapes. Also briefly describes the cultivation caring for healthy plant growth.

Then comes the second chapter which gives a detailed description of ochratoxinogonon fungi, and factors that influence their development. Indicate before and after collectible grape fungal diseases and infections of their products, and certainly the methods for mycotoxins.

The ways to prevent and treat problems caused by ochratoxinogonoi fungi are concentrated in the third chapter of the thesis.

The thesis concludes with the fourth chapter which is devoted to the legislative side of the case.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Με τις πρώτες προσπάθειες αποθήκευσης, συντήρησης, παρασκευής τροφίμων εμφανίστηκαν και τα προβλήματα αλλοίωσης των τροφίμων, εξαιτίας των μυκήτων που προσβάλλουν τα φυτά κατά την καλλιέργειά, αλλά και μετά την συγκομιδή τους. Κάθε χρόνο αποσύρονται μεγάλες ποσότητες τροφίμων λόγω της προσβολής τους από τοξινογόνους μύκητες και την μόλυνσή τους με μυκοτοξίνες. Μια από αυτές είναι η Ωχρατοξίνη Α (ΩΤΑ), η οποία έχει ανιχνευθεί σε ένα ευρύ φάσμα τροφίμων (π.χ. κρασί, δημητριακά, σταφύλια, κακάο), είναι πολύ τοξική και παράγεται κυρίως από μύκητες των γενών *Aspergillus* (προσβάλλουν και τα σταφύλια) και *Penicillium* (προσβάλλει κυρίως σιτηρά).

Στατιστικές μελέτες έχουν δείξει ότι τα σιτηρά προσβάλλονται πιο συχνά από ωχρατοξινογόνους μύκητες ενώ τα σταφύλια είναι δεύτερα στην κατάταξη παγκοσμίως.

Οι μύκητες του γένους *Aspergillus* είναι ωχρατοξινογόνοι μύκητες που προσβάλλουν τα σταφύλια και απελευθερώνουν την ωχρατοξίνη Α, ιδίως ο μύκητας *Aspergillus carbonarius* επωφελείται πάρα πολύ από τις συνθήκες που επικρατούν μέσα στους καρπούς των αμπελιών, τα σταφύλια, οπότε και απαντάται πολύ συχνά να έχει μολύνει τα σταφύλια με ΩΤΑ, η οποία είναι στην ουσία ένας μεταβολίτης.

Η παραγωγή της Ελλάδος καταλαμβάνει περίπου το 2% της συνολικής παραγωγής της Ευρωπαϊκής Ένωσης και για το 2004 ανήλθε σε 4.295.000 HL, η οποία κατανέμεται ανάλογα με την κατηγορία των οίνων και τη διάκρισή τους σε λευκούς και ερυθρούς.

Κύριος στόχος της παρούσας εργασίας είναι η εξέταση της μόλυνσεως των προϊόντων της αμπέλου (σταφύλια) και των υποπροϊόντων της (κρασί, σταφίδες, κομπόστοποιημένα και κονσερβοποιημένα σταφύλια, χυμός σταφυλιών) από το γένος του προαναφερθέντα μύκητα. Θα εξετάσουμε το κύριο είδος που μολύνει τα σταφύλια με ωχρατοξίνη Α, *Aspergillus carbonarius*, τις συνθήκες ανάπτυξής του, τις επιζήμιες ιδιότητες της ΩΤΑ για τον άνθρωπο και τα ζώα, τρόπους ανίχνευσης ΩΤΑ καθώς και τρόπους πρόληψης και αντιμετώπισης – μείωσης αυτής της μυκοτοξίνης στα προϊόντα σταφυλιών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Η ΑΜΠΕΛΟΣ ΚΑΙ ΤΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΤΗΣ

1.1. Ταξινόμικά στοιχεία

Η άμπελος είναι ένα Αγγειόσπερμο (συνομοταξία των Αγγειοσπέρμων) φυτό που ανήκει στην τάξη των Ραμνωειδών (Rhamnales) και στην οικογένεια των Αμπελωειδών (Vitaceae Ampelidaceae)., με πολλές ποικιλίες που καλλιεργούνται στις εύκρατες περιοχές της γης. Οι ποικιλίες αμπελιού με οικονομικό ενδιαφέρον ανήκουν όλες στο γένος *Vitis*, της κλάσης των Δικότυλων, της, του αθροίσματος των Σπερματοφύτων, του βασιλείου των Φυτών. (Βαρδαβακη, 1993)

Συστηματική ταξινόμηση

Σύστημα: κατά CRONQUIST, 1981

Βασίλειο:	<u>Φυτά</u>	(Plantae)
Συνομοταξία:	<u>Αγγειόσπερμα</u>	(Magnoliophyta)
Ομοταξία:	<u>Δικοτυλήδονα</u>	(Magnoliopsida)
Υφομοταξία:	<u>Ροδίδες</u>	(Rosidae)
Τάξη:	<u>Ραμνώδη</u>	(Rhamnales)
Οικογένεια:	<u>Αμπελοειδή</u>	(Vitaceae)
Γένος:	<u>Αμπελος</u>	(<i>Vitis</i>)
Είδος:	V. vinifera	

Οι κύριες ποικιλίες σταφυλιού είναι : η Ευρωπαϊκή (*Vitis vinifera*), οι Βορειο – αμερικάνικες (*Vitis labrusca* και *Vitis rotundifolia*) και ορισμένες Γαλλικές παραλλαγές.

Στο σύνολό τους, οι ποικιλίες της αμπέλου είναι πάρα πολλές, υπερβαίνουν τις δέκα χιλιάδες σε αριθμό οπότε θα ήταν ανούσιο να τις αναφέρουμε όλες, ωστόσο αξίζει να αναφέρουμε τις πιο σημαντικές με βάση την ποιότητά τους, όπως επίσης και τις πιο σημαντικές ελληνικές ποικιλίες. Οι ποικιλίες της αμπέλου χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες:

1. **Ποικιλίες που προορίζονται για οινοποίηση (λευκός-ροζέ-ερυθρός οίνος):**

Ως οινοποιήσιμη ποικιλία αμπέλου, η ποικιλία αμπέλου, η οποία καλλιεργείται κατά τον συνηθισμένο τρόπο για την παραγωγή σταφυλιών που προορίζονται για την παραγωγή οίνων προς ανθρώπινη κατανάλωση. Για ερυθρό και ροζέ οίνο χρησιμοποιούμε κόκκινες ποικιλίες, ενώ μπορούμε να φτιάξουμε λευκό κρασί και από λευκές αλλά και από ερυθρές ποικιλίες. Παγκοσμίως αναγνωρισμένες για την ποιότητά τους είναι οι εξής ποικιλίες: Cabernet Sauvignon (η οποία είναι διασταύρωση από τις ποικιλίες Cabernet και Sauvignon και θεωρείται η κορυφαία ποικιλία ποιοτικά για ερυθρή οινοποίηση), Sauvignon blanc, Chardonnay, Merlot, Syrah, Bordeaux, Porto ενώ οι πιο σημαντικές ελληνικές είναι: Ξινόμαυρο, Αγιωργήτικο, Μοσχοφύλερο, Σαββατιανό, Μαυροδάφνη, Ροδήτης κ.α. Είναι σημαντικό ακόμα να αναφέρουμε ότι η ποιότητα του οίνου εξαρτάται τόσο από την ποικιλία όσο και από τις εδαφοκλιματικές συνθήκες της αμπέλου.

2. **Ποικιλίες που προορίζονται για επιτραπέζια χρήση ή νοπή κατανάλωση:**

Ως επιτραπέζια ποικιλία αμπέλου, η ποικιλία αμπέλου, η οποία είναι αποδεκτή στο πλαίσιο των κοινών κανόνων ποιότητας για τα επιτραπέζια σταφύλια κατ' εφαρμογή του Καν (ΕΟΚ)1730/87 και του Καν (ΕΚ)2200/96 της ΚΟΑ των οπωροκηπευτικών. Η ποικιλία αυτή καλλιεργείται κατά τον συνηθισμένο τρόπο για την παραγωγή σταφυλιών που προορίζονται να καταναλώνονται νοπά. Σημαντικότερες ελληνικές ποικιλίες : Κορινθιακή σταφίδα, Φράουλα, Σουλτανίνα, Ραζάκι (γνωστό ως Κέρινο) κ.α.

3. **Ποικιλίες που προορίζονται για ειδική χρήση:** Ως ποικιλία ειδικής χρήσης, η ποικιλία αμπέλου η οποία καλλιεργείται κατά τον συνηθισμένο τρόπο για την παραγωγή σταφυλιών που προορίζεται για άλλες χρήσεις πέραν των αναφερομένων στα σημεία 1 και 2, όπως: Παραγωγή αποστάγματος οίνου, Παραγωγή σταφίδων (τα κριτήρια εδώ είναι πολύ αυστηρά οπότε και οι κατάλληλες ποικιλίες είναι ελάχιστες), Παραγωγή σταφυλιών προς χρήση στην βιομηχανία κονσερβοποίησης, Παραγωγή χυμού σταφυλιών. Σημαντικότερες ελληνικές ποικιλίες: Κορινθιακή σταφίδα (κατάλληλη για σταφιδοποίηση), Φράουλα, Ραζάκι κ.α.

Πρέπει να αναφέρουμε ότι για τα σημεία 1 και 2, αν και είναι αναγνωρισμένες αυτές οι ποικιλίες για τα ποιοτικά χαρακτηριστικά τους, όσον

αφορά τη βρώση νωπών σταφυλιών και την πόση οίνου, κύριο κριτήριο για τον κάθε άνθρωπο είναι το προσωπικό του γούστο. (Αργύρης Ν. Τσακίρης 2011,)

1.2. Βοτανικά χαρακτηριστικά της αμπέλου

Το αμπέλι είναι δικοτυλήδονο φυτό. Είναι ένας θάμνος αναρριχούμενος, ελικοφόρος, ο οποίος φέρει ετερόστοιχους οφθαλμούς δηλαδή σχηματίζονται σε αντίθετες σειρές κατά μήκος του βλαστού. Η αναρρίχηση του αμπελιού σε διάφορα στηρίγματα γίνεται με της έλικες. Όταν δεν υπάρχουν στηρίγματα, τότε έρπει πάνω στο έδαφος. Διακρίνουμε το υπέργειο τμήμα ή κόμη που περιλαμβάνει τον κορμό του, τους βραχίονες, τους βλαστούς, τα φύλλα και τους καρπούς και το υπόγειο που αποτελείται από τις ρίζες. Η ζώνη που ενώνει τα δύο αυτά τμήματα λέγεται λαιμός. (Βαρδαβακη, 1993)

Ρίζα αμπέλου: Στα φυτά που προέρχονται από γίγαρτα διακρίνουμε την κύρια ρίζα που είναι πασσαλώδης, και τις χοντρές διακλαδώσεις της, τις δευτερεύουσες ρίζες, δηλαδή τα ριζικά μπράτσα. Απ' τις δευτερεύουσες χοντρές ρίζες βγαίνουν άλλες λεπτότερες (τριτεύουσες) που καταλήγουν όλο σε λεπτότερες ρίζες (τριχίδια). Αντίθετα, στα μοσχεύματα και στις καταβολάδες οι ρίζες βγαίνουν κυρίως από τα γόνατα και ονομάζονται τυχαίες. Η γωνία που σχηματίζουν οι κύριες ρίζες με την κατακόρυφο ονομάζεται γεωτροπική γωνία. Το ριζόστρωμα του αμπελιού βρίσκεται περίπου σε βάθος 0,20 – 0,80 μέτρα επηρεαζόμενο κυρίως από τις εδαφικές συνθήκες. Η κύρια ρίζα χρησιμεύει κυρίως για το στήριγμα του αμπελιού, ενώ αυτές που τρέφουν το αμπέλι είναι οι ψιλές ρίζες.

Κορμός: Το αμπέλι κατά την νεαρά ηλικία διαθέτει αρχικά λεπτό κυλινδρικό, λείο, χνοώδης και πράσινο βλαστό. Καθώς τα αμπέλια μεγαλώνουν, ο κορμός γίνεται χοντρός, ξυλώδης, καστανός και σχίζεται σε λουρίδες (βγάζει ρόζους). Το ύψος του κορμού του αμπελιού ποικίλει, στις κρεβατίνες π.χ. φτάνει τα δύο ή και παραπάνω μέτρα. Ο κορμός του αμπελιού πρέπει να είναι γερός και ίσιος. Αυτό το πετυχαίνουμε κλαδεύοντας σφιχτά τον πρώτο χρόνο και προσδένουμε το ζωηρό βλαστό που θα βγει σε στήριγμα. Τα δεσίματα συνεχίζονται όσο ο βλαστός μεγαλώνει για να μη σχηματίζονται κοιλίες. Ο κορμός μαζί με τη ρίζα είναι τα πιο μακρόβια όργανα του αμπελιού και σε μερικές περιπτώσεις ζουν μέχρι έναν αιώνα. (Βαρδαβακη, 1993)

Βλαστός – Κληματίδες: Ο βλαστός προέρχεται από την ανάπτυξη του οφθαλμού κατά την περίοδο της βλάστησης και φέρει την αρχεβλάστη, τα γόνατα ή κόμπους, τα μεσογονάτια, τους οφθαλμούς, τους έλικες και τις ταξιανθίες. Πάνω σε κάθε βλαστό ξεχωρίζουμε τα γόνατα, όπου βρίσκονται εναλλάξ τα μάτια και ανάμεσα στα γόνατα είναι τα μεσογονάτια διαστήματα. Η αύξηση του βλαστού γίνεται αρχικά με την γρήγορη επιμήκυνση των πρώτων 8-10 μεσογονατίων διαστημάτων τα οποία προϋπήρχαν στον οφθαλμό και στη συνέχεια με την παραγωγή νέων μεσογονατίων από τον επάκριο οφθαλμό (αρχεβλάστη). Με την έναρξη της ξυλοποίησης σταματά η επιμήκυνση του βλαστού, οπότε ξηραίνεται και πέφτει ο επάκριος οφθαλμός. Η συνέχιση της επιμήκυνσης του ξυλοποιημένου πλέον βλαστού (κληματίδας), τον επόμενο χρόνο, γίνεται από ακραίο πλάγιο οφθαλμό (σε αντίθεση με τα περισσότερα καρποφόρα, στα οποία ο επάκριος οφθαλμός δεν καταστρέφεται και η επιμήκυνση του κύριου βλαστού γίνεται χωρίς διακλάδωση), αλλά και από παλιότερα μάτια που βρίσκονται στα μπράτσα ή στον κορμό του αμπελιού. Ανάλογα με το σχήμα, την ποικιλία και τη δύναμη του αμπελιού, οι κληματίδες μπορούν ν' αποκτήσουν μικρό ή πολύ μεγάλο μήκος. Αυτό που πρέπει να επιδιώκουμε είναι το 1,50- 2,50 μ. μήκος. Το χρώμα των κληματίδων διαφέρει σε κάθε ποικιλία (από υπόξανθο μέχρι καφέ ή ανοικτό κόκκινο).



Εικόνα 1.2.1. Το αμπέλι.

Οφθαλμοί: Βρίσκονται στα γόνατα (κόμποι) του βλαστού και είναι μεταξύ τους εναλλάξ. Είναι σύνθετοι, δηλαδή πολλοί μαζί, 2 ή 3 ή και παραπάνω. Τα μάτια του κόμπου κατατάσσονται σε δύο κατηγορίες. Σε ταχυφυείς και λανθάνοντες ή χειμέριους οφθαλμούς. Ο ταχυφυής βλαστάνει το ίδιο έτος του σχηματισμού του, ενώ ο λανθάνων, που ξεπερνάει τον ταχυφυή σε μέγεθος, το επόμενο. Έτσι σε ένα βλαστό διακρίνουμε τριών ειδών οφθαλμούς, τους ταχυφυείς, τους λανθάνοντες και

τον επάκριο, Επιπλέον στο παλιό ξύλο (μπράτσα και κορμό) υπάρχουν και οι κοιμώμενοι οφθαλμοί που παραμένουν ζωντανοί και αν ασκηθεί πάνω τους μεγάλη βλαστική δύναμη όπως μετά από πολύ αυστηρό κλάδεμα, βλαστάνουν δίνοντας ένα ζωηρό βλαστό (λαίμαργο). Κάθε χειμέριος οφθαλμός κι ανάλογα με τη θέση του στην κληματίδα δεν έχει ή έχει 1-4 τσαμπιά (βότρες). Σε μερικές ποικιλίες, τα μάτια που είναι κοντά στη βάση της κληματίδας, στον πρώτο ή και δεύτερο κόμπο, είναι άγονα, δηλαδή δεν έχουν σταφύλια. Αντίθετα σε μερικές είναι πολύ γόνιμα. Σταφύλια μπορούμε να πάρουμε και από τους ταχυφυείς σε μερικές ποικιλίες αλλά είναι μικρόρογα και αραιόρογα (καμπανάρια). Μερικές ποικιλίες, από τα μάτια που βρίσκονται στη βάση της κληματίδας, πετάνε μόνο φύλλα χωρίς βλαστό (αυτά τα μάτια τα λέμε φυλλίτες). Σταφύλια ακόμη δεν έχουν τα μάτια που βρίσκονται στην άκρη (κορυφή) της κληματίδας. Τα καλύτερα μάτια για κλάδεμα, που έχουν και τα περισσότερα σταφύλια είναι ανάμεσα στον τρίτο και το έβδομο περίπου κόμπο της κάθε κληματίδας, πράγμα που το εκμεταλλευόμαστε στο κλάδεμα.

Φύλλα: Είναι τα κατεξοχήν πράσινα όργανα του φυτού του αμπελιού, αυτά που κυρίως διαθέτουν τη χλωροφύλλη και φωτοσυνθέτουν. Τα φύλλα του αμπελιού απαντούν στους κόμπους του βλαστού είναι πολύ πλατιά και μεγάλα, παλαμοσχιδή, εναλλασσόμενα σε δυο διαμετρικά αντίθετες σειρές, Υπάρχουν διαφορές που αφορούν το μέγεθος, το σχήμα, το χρώμα και λοιπά γνωρίσματα, σε κάθε ποικιλία. Γι' αυτό κι αποτελούν τη βάση ή ένα από τα κύρια γνωρίσματα για την αναγνώριση και την κατάταξη της κάθε ποικιλίας. (Βαρδαβακη, 1993)



Εικόνα 1.2.2. Τα φύλλα του Αμπελιού

Έλικες: Βρίσκονται απέναντι από τα φύλλα. Οι έλικες μορφολογικά είναι διαφοροποιημένοι βλαστοί και έχουν κοινή καταγωγή με τις ταξιανθίες και χρησιμεύουν για την περιέλιξη και το στήριγμά του σε σταθερά φυσικά (άλλα δέντρα) ή τεχνητά (πάσσαλοι με σύρμα) στηρίγματα. Οι ευρωπαϊκές ποικιλίες είναι

διαλείπουσες δηλαδή σε δύο συνεχόμενους κόμπους υπάρχουν έλικες (ή ταξιανθίες), στον επόμενο κανένα και ο ρυθμός αυτός συνεχίζεται μέχρι το άκρο του βλαστού. Οι έλικες διχοτομούνται και ή τριχοτομούνται και περιλαμβάνουν το υποκλάδιο (Α) και δύο διακλαδώσεις, η εξωτερική φέρει στην βάση της ένα βράκτιο φύλλο και μπορεί να υποδιαιρεθεί (Β), ενώ αντίθετα η εσωτερική είναι κοντύτερη και δεν υποδιαιρείται (C).

Ταξιανθία – Ανθη: Οι ταξιανθίες εμφανίζονται την Άνοιξη σε θέση αντίθετη από τα φύλλα όπως και οι έλικες που είναι όργανα ομόλογα. Βρίσκονται συχνότερα από τον δεύτερο έως τον έβδομο κόμπο και ο αριθμός τους σε κάθε καρποφόρο βλαστό κυμαίνεται μεταξύ 1-4 ταξιανθίες στις ευρωπαϊκές ποικιλίες. Βασικό σχήμα της ταξιανθίας είναι ο σύνθετος βότρυς, με το μέγεθος και το σχήμα να διαφέρουν ανάλογα με την ποικιλία. Το κλειστό άνθος είναι μικρό (3-5 mm) πράσινο, αποσιδές ή κυλινδρικό. Το άνθος περιλαμβάνει τον κάλυκα που απαρτίζεται από πέντε ενωμένα σέπαλα, τη στεφάνη, επίσης με πέντε πέταλα , ενωμένα με τρόπο που σχηματίζουν καλύπτρα. Τα πέταλα κατά την ανθοφορία, αντίθετα από άλλα είδη φυτών, αποκολλώνται από κάτω ενώ μεταξύ τους παραμένουν ενωμένα και σχηματίζουν καλύπτρα (πιλίδιο). Το ανδρείο περιλαμβάνει πέντε στήμονες (σπάνια 4-8) που αποτελούνται από κιτρινωπό νήμα με δίχωρους ανθήρες. Στο κέντρο του άνθους βρίσκεται ο ‘ύπερος που σχηματίζεται από δύο καρπόφυλλα και αποτελείται από δίχωρο ωοθήκη, βραχύ στύλο και δίοβο πεπλατυσμένο στίγμα (Φυσαράκης 1992).

Ταξικαρπία: Ο καρπός της αμπέλου καλείται ράγα (ρώγα στην καθομιλουμένη). Κάθε ράγα σταφυλιού έχει ημιδιαφανή σάρκα και περιβάλλεται από ένα λείο λεπτό φλοιό. Μερικές ρώγες περιέχουν βρώσιμους σπόροι, ενώ άλλες δεν έχουν καθόλου κουκούτσια. Το χρώμα των φρούτων είναι οφείλεται στην περιεριστικότητα τους σε πολυ-φαινολικές χρωστικές ουσίες. Οι ρώγες που είναι κόκκινες ή μωβ είναι πλούσιες σε ανθοκυανίνες, ενώ οι λευκές-πράσινες περιέχουν περισσότερες τανίνες, και ειδικότερα κατεχίνες. Είναι ενδιαφέρον, ότι αυτές οι αντιοξειδωτικές ενώσεις βρίσκονται συμπυκνωμένες στον φλοιό και τους σπόρους! (Βαρδαβακη, 1993)



Εικόνα 1.2.3 . Οι καρποί (ράγα) του Αμπελιού.

1.3. Μυθολογία-Προϊστορία- Ιστορία - Ιστορική εξέλιξη.

Γεωγραφική εξάπλωση και οικονομική σημασία της καλλιέργειας της

Η καταγωγή του αμπελιού ως φυτού, είναι παλαιότερη του ανθρώπου. Πριν ακόμη τη μεγάλη περίοδο των παγετώνων, όπως μαρτυρούν ευρήματα, υπήρχαν αμπέλια ακόμη και στις πολικές περιοχές. Κατά την περίοδο των παγετώνων το αμπέλι άρχισε να εκτοπίζεται από τις βόρειες με ψυχρό κλίμα περιοχές, και η ανάπτυξή του περιορίστηκε σ' αυτές με εύκρατο κλίμα κατάλληλες κλιματολογικά. Ο τόπος καταγωγής του αμπελιού πιθανών είναι η Ασία.. Ο Καύκασος, η Μεσοποταμία και η αρχαία Αίγυπτος πρέπει να θεωρηθούν οι κοιτίδες της αμπελουργίας και οι πατρίδες του κρασιού. Εκεί, μεταξύ Ευξείνου Πόντου, Κασπίας θάλασσας και Μεσοποταμίας, γεννήθηκε το είδος Άμπελος η οиноφόρος (*Vitis vinifera*), που καλλιεργείται σήμερα. Στον Ελλαδικό χώρο η καλλιέργεια της αμπέλου εισήχθη από ανατολίας και τοποθετείται στα μέσα της τρίτης π. Χ. χιλιετηρίδας.

Στην αρχαία ελληνική μυθολογία αναφέρονται τρία πρόσωπα με το όνομα Στάφυλος. Η επικρατέστερη σχετικά με το όνομα των σταφυλιών αναφέρεται στον Στάφυλο, που ήταν βοσκός του βασιλιά Οινέα. Κάθε σούρουπο, όταν οδηγούσε τα κοπάδια πίσω στο υποστατικό του αφεντικού του, πρόσεξε ότι μια γίδα καθυστέρουσε, ενώ συγχρόνως έκανε τρέλες. Την παρακολούθησε μια μέρα και είδε ότι το ζώο έτρωγε κάποιους καρπούς που ο ίδιος δεν είχε ξαναδεί. Ο Στάφυλος διηγήθηκε το περιστατικό στον Οινέα και αυτός του υπέδειξε να στίψει τους

καρπούς αυτούς και να πάρει τον χυμό τους. Παρασκεύασε έτσι ένα ποτό που ονομάστηκε οίνος (κρασί) από το όνομα του βασιλιά, ενώ οι καρποί αυτοί ονομάστηκαν σταφύλια (σταφυλαί) από το όνομα του Σταφύλου.

Το μικρό και «άγριο» σταφύλι υπάρχει εκατομμύρια χρόνια στη γη. Οι κυνηγοί-τροφοσυλλέκτες πρόγονοί μας το κατανάλωναν ευρέως και ευτυχώς διατηρούσαν το χυμό του σε πήλινα βάζα. Πιθανότατα από τύχη - ανακάλυψαν τη ζύμωση του χυμού του σταφυλιού σε ένα βάζο, που μάλλον είχαν ξεχάσει. Έτσι, περίπου 4000 χρόνια πριν από την σημερινή εποχή, ξεκίνησε η αναζήτηση της γνώσης για την παρασκευή του κρασιού από τα σταφύλια, ενώ παράλληλα ξεκινούσαν οι προσπάθειες – με τις γνώσεις τις εποχής – για να «εξημερωθεί» το αμπέλι.

Η καλλιέργεια της αμπέλου γινόταν στην περιοχή του Τίγρη και του Ευφράτη. Χίλια χρόνια αργότερα, οι καλλιεργητές είχαν κάνει μεγάλη πρόοδο στη Μεσοποταμία, τη Συρία, τη Φοινίκη και στο Αιγυπτιακό δέλτα. Ήδη, από την εποχή εκείνη, υπήρχαν πολλές ποικιλίες αμπελιού και σταφυλιών. Σε ιερογλυφικές επιγραφές γίνονται αναφορές στην άμπελο, ενώ διάφορες ζωγραφιές σε τοίχους αναπαριστούν ανθρώπους να καλλιεργούν αμπέλια και να μαζεύουν σταφύλια. Οι εικόνες και οι γραφές αυτές χρονολογούνται στο 2500 π.Χ. Στην Ελλάδα των ομηρικών χρόνων, το κρασί ήταν καθημερινό ποτό, που καταναλωνόταν από άνδρες, γυναίκες και παιδιά. αναφορές βρίσκονται στα Ομηρικά Έπη. Στα συμπόσια των ηρώων δεσπόζει η κατανάλωση σταφυλιού τόσο στην Οδύσσεια όσο και στην Ιλιάδα.

Η εξημερωμένη άμπελος (*vitis vinifera ssp sativa*) καλλιεργείται στην ελληνική χερσόνησο, σε πολλές περιοχές από την 4η χιλιετία π.Χ. Σύμφωνα με αρχαιολογικά ευρήματα των τελευταίων ετών (δημοσίευση στο περιοδικό *Antiquity* –2007), που ανακαλύφθηκαν στους Φιλίππους της Ανατολικής Μακεδονίας, η πρώτη παρουσία εξημερωμένης αμπέλου στην Ελλάδα, στους Προϊστορικούς χρόνους, ανάγεται στο δεύτερο μισό της 5ης χιλιετίας π.Χ. Τα πρώτα ίχνη οινοποίησης είναι απανθρακωμένα κουκούτσια και φλοιοί (στέμφυλα), προϊόντα έκθλιψης σταφυλιού άγριας, αλλά και ήμερης αμπέλου. Σε κατοπινές περιόδους της Νεολιθικής εποχής έχουμε ενδεχομένως, διάδοση της αμπελοκαλλιέργειας στην Ελλάδα και από άλλες χώρες, που είχαν ήδη αναπτύξει οινοποιητική δραστηριότητα στους Προϊστορικούς χρόνους, όπως είναι η Μεσοποταμία και η Αίγυπτος. Από εκεί, μέσω των ταξιδευτών Φοινίκων, το αμπέλι διαδίδεται στην Ελλάδα, αρχής γενομένης από

την Κρήτη. Κατ' άλλους, η αμπελουργική δραστηριότητα στην Ελλάδα ξεκινά στη Θράκη, ερχόμενη από την Ανατολή. Κατά την εποχή του Χαλκού, στη 2η χιλιετία π.Χ. και μετά τον Κυκλαδικό πολιτισμό, που αναπτύχθηκε στο Αιγαίο πέλαγος, αναπτύσσονται στην Ελλάδα δύο από τους σημαντικότερους αρχαίους πολιτισμούς των Προϊστορικών χρόνων, στους οποίους το κρασί έπαιξε σημαντικό ρόλο, τόσο ως εμπόρευμα, όσο και ως διατροφικό αγαθό. Αρχικά ο Μινωικός, που με έδρα την Κρήτη εξαπλώνεται στα γύρω νησιά του Αιγαίου πελάγους, είχε το αμπέλι και το κρασί ως ένα από τα κύρια προϊόντα καλλιέργειας και εξαγωγής, αντίστοιχα. Έκτοτε, η αμπελοκαλλιέργεια δεν σταμάτησε ποτέ στο νησί, όπου σε προγενέστερες εποχές έχουν ανακαλυφθεί το αρχαιότερο πατητήρι του κόσμου και υπολείμματα κρασιού σε αγγεία. Στη συνέχεια, ο Μυκηναϊκός πολιτισμός, με έδρα τις Μυκίνες στην Πελοπόννησο, θα κυριαρχήσει στη νότια Ελλάδα και στη Μεσόγειο, για το δεύτερο μισό της 2ης χιλιετίας, μετά από την τρομακτική έκρηξη του ηφαιστείου της Θήρας (Σαντορίνη). Στην εποχή αυτή (13ος αι. π.Χ.) τοποθετείται ιστορικά, η συνένωση των Ελλήνων στην εκστρατεία κατά της Τροίας και το ταξίδι της επιστροφής του Οδυσσέα, όπου αναφέρονται τα δύο έπη του Ομήρου.

Οι Ρωμαίοι, ήταν λάτρεις του κρασιού καθώς επίσης και εξαιρετοι αγρότες. Η καλλιέργεια της αμπέλου, η κατανάλωση σταφυλιών και η παραγωγή κρασιού είχε εξαπλωθεί σε όλη την αυτοκρατορία. Σε πολλές απεικονίσεις συμποσίων της Ρωμαϊκής αυτοκρατορίας, βλέπουμε μεγάλα τσαμπιά με ζουμερά φρέσκα σταφύλια. Το σταφύλι, αποτελεί ξεχωριστό στοιχείο και στην εκκλησιαστική μας παράδοση.

Η συστηματική και μεθοδική όμως, καλλιέργεια των αμπελιών για να δώσουν επιτραπέζια φρούτα ή για να γίνουν κρασί, η επιλογή των ποικιλιών που ταίριαζαν για καλλιέργεια σε κάθε τόπο, οι προσπάθειες για την απόδοση του καλύτερου δυνατού φρούτου απαιτήσαν μεγάλο χρονικό διάστημα.

Αναφέρεται ότι τα φρέσκα σταφύλια διαφοροποιηθήκαν και κατατάχθηκαν σε κατηγορίες και ποικιλίες, προς το τέλος του 19ου με αρχές του 20ου αιώνα, Σήμερα είναι πολύ δημοφιλή φρούτα και έχουμε περισσότερες πληροφορίες για αυτά.

Οι αμπελουργικές εκμεταλλεύσεις στην ΕΕ απασχολούν περισσότερα από 1.500 000 άτομα σε ισοδύναμο πλήρους απασχόλησης. Προσθέτοντας σε αυτό τον αριθμό τους υπόλοιπους συντελεστές του κλάδου στα προγενέστερα και μεταγενέστερα στάδια της παραγωγής η συνολική απασχόληση, που δημιουργεί η αμπελουργική δραστηριότητα, βρίσκεται σε πολύ υψηλότερα επίπεδα. Ο αριθμός των 1. 500 000 απασχολούμενων αντιστοιχεί στο 15% περίπου του συνόλου των

μονάδων ετήσιας εργασίας στη γεωργία. Η Ιταλία απασχολεί το μεγαλύτερο δυναμικό: 500. 000 παραγωγούς, δηλαδή το 32% του ευρωπαϊκού συνόλου, 7 ακολουθούμενη από την Πορτογαλία (277. 000 εργαζόμενοι-18%). Από κοινού, τα δύο αυτά κράτη- μέλη απασχολούν το ήμισυ του εργατικού δυναμικού. Η Γαλλία και η Ισπανία απασχολούν το 13% και το 10%, αντιστοίχως, του ευρωπαϊκού συνόλου. Η οικογενειακή εργασία κυριαρχεί (77% του συνόλου των απασχολούμενων), παρόλο που η μισθωτή εργασία παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στη Γαλλία, την Τσεχική Δημοκρατία και τη Σλοβακία, αντιπροσωπεύοντας ποσοστό μεγαλύτερο του 40% της απασχόλησης στον κλάδο. (Σαβίδης 2000)

1.4. Ανάγκες της αμπέλου

Τα στοιχεία που συμβάλουν στην ποιότητα των σταφυλιών του αμπελιού είναι το έδαφος και το κλίμα. Το έδαφος προσφέρει τα απαραίτητα στοιχεία για τη διατροφή και τη σωστή ανάπτυξη του φυτού. Το κλίμα επηρεάζει την ανάπτυξη του αμπελιού και έμμεσα την ποιότητα το κρασιού. (Νικολάου 2011)

Έδαφος. Γενικά το αμπέλι ζει και αποδίδει σε όλους τους τύπους των εδαφών εκτός εκτός από τα τελείως ξηρά, τα πολύ υγρά και τα αλμυρά. Προτιμούνται όμως τα μέσης σύστασης εδάφη τα οποία έχουν ελαφρά μηχανική σύσταση, καλά στραγγιζόμενα. Το αμπέλι ευδοκιμεί σε οποιασδήποτε αναλογία των συστατικών του εδάφους (πετρώδη, χαλκώδη, ασβεστούχα κ.α.). Γενικά το αμπέλι αγαπάει τα ουδέτερα εδάφη, το PH των οποίων κυμαίνεται από 6,5-7,5. Αυτό δεν σημαίνει ότι ποικιλίες δεν καλλιεργούνται τόσο σε όξινα (3-6 PH) ή σε αλκαλικά (7-9 PH).

Κλιματικές συνθήκες Γενικά το κλίμα καθορίζει τις περιοχές όπου οι ποικιλίες του αμπελιού μπορούν να καλλιεργηθούν. Το αμπέλι είναι ένα φυτό που δεν αγαπάει ούτε το υπερβολικό κρύο αλλά ούτε και τις πολύ ζεστές, υγρές συνθήκες.

Η θερμοκρασία είναι απαραίτητη για την κανονική βλάστηση του αμπελιού και επιδρά στη σύνθεση του γλεύκους και στην συνέχεια στην παραγωγή κρασιών ποιότητας. Η βλάστηση επιτυγχάνεται στους 12-18°C, η άνθηση στους 20-22°C και από την ανθοφορία έως την αλλαγή χρώματος η θερμοκρασία οφείλει να κυμαίνεται στους 22-26°C. Από την αλλαγή χρωματισμού των ραγών έως την ωρίμανση η

θερμοκρασία κυμαίνεται 20 -24°C. Από την έναρξη έως τη λήξη του τρυγητού 18 - 22°C.

Το φως είναι ο βασικότερος παράγοντας που επιδρά στο σχηματισμό υδατανθράκων στα φύλλα και επηρεάζει τη σύνθεση του σταφυλιού. Το ευρωπαϊκό αμπέλι αντέχει στη ξηρασία και μπορεί να βλαστήσει σε περιφέρειες όπου το ετήσιο ύψος βροχής δεν υπερβαίνει τα 200 χιλιοστά.

Οι άνεμοι είναι ωφέλιμοι κατά την άνθηση (επικονίαση γονιμοποίηση), αλλά οι δυνατοί άνεμοι γίνονται επικίνδυνοι γιατί σπάζουν τους βλαστούς και τους βότρες.

Λίπανση: Το αμπέλι είναι ένα φυτό χωρίς ιδιαίτερες απαιτήσεις. Το αμπέλι, για να αναπτυχθεί και να παράγει, έχει ανάγκη από ορισμένα στοιχεία, τα οποία μαζί με το νερό αποτελούν τα βασικά συστατικά της φυτικής ύλης. Έχει ανάγκη από τα τρία κύρια θρεπτικά συστατικά: το άζωτο (N), το φώσφορο (P) και το κάλιο (K). Σε πολύ μικρότερες ποσότητες έχει ανάγκη από φωσφόρο και μαγνήσιο και ακόμα μικρότερες από θείο. Επίσης χρειάζεται και τα ιχνοστοιχεία σίδηρο (Fe), ψευδάργυρο (Zn), μαγγάνιο (Mg), βόριο (B) και χαλκό, ενώ σε ίχνη προσλαμβάνει και το μολυβδαίνιο.

Χλωρή λίπανση: Στον αμπελώνα η χλωρή λίπανση συνίσταται στην καλλιέργεια φυτών εδαφοκάλυψης, κατά την περίοδο του χειμώνα, τα οποία στη συνέχεια ενσωματώνονται στο έδαφος, κυρίως νωρίς την άνοιξη, με στόχο την διατήρηση και την αύξηση της γονιμότητας του εδάφους. Στο Ελλαδικό χώρο υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός ειδών και ποικιλιών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φυτά εδαφοκάλυψης. Τα ψυχανθή στο αμπέλι αποτελούν την πιο οικονομική πηγή αζώτου στα συστήματα βιολογικής παραγωγής.

Άρδευση: Η άρδευση του αμπελώνα αποτελεί μια σημαντική καλλιεργητική εργασία που επηρεάζει τις εισροές και τις απώλειες των θρεπτικών στοιχείων. Πρέπει να ρυθμίζεται, τόσο όσον αφορά τη συνολική ποσότητα του νερού, όσο και τη δοσολογία, τον αριθμό και το χρόνο της κάθε εφαρμογής έτσι ώστε να επιτυγχάνεται άριστη κάλυψη των υδατικών απαιτήσεων των αμπελιών, με παράλληλη ελαχιστοποίηση των απωλειών του νερού. Οι ανάγκες των πρέμνων σε νερό εξαρτώνται κυρίως από την επιφάνεια του φυλλώματος. Το νερό είναι πολύ

χρήσιμο για το αμπέλι και μπορεί να δίνεται όλες τις εποχές, εκτός από την περίοδο της άνθησης και έως το δέσιμο των καρπών.

1.5 Βιολογική καλλιέργεια της αμπέλου

Οι παραγωγοί πολλών προηγμένων αμπελουργικών χωρών, έχουν αρχίσει τελευταία να ασχολούνται ολοένα και περισσότερο με τη βιολογική καλλιέργεια του αμπελιού, προκειμένου να αντιμετωπίσουν προβλήματα όπως: α) υπερπαραγωγής και διάθεσης των αποθεμάτων, κυρίως κρασιού και σταφίδας β) ποιότητας της παραγωγής (υπολείμματα αγροχημικών κ.τ.λ) και γ) περιβαλλοντικών επιπτώσεων των αγροχημικών στο περιβάλλον (ρύπανση του αέρα, ρύπανση των υδάτων) και στην υγεία του ανθρώπου. Το 1982 στη χώρα μας άρχισε η εφαρμογή προγράμματος βιολογικής καλλιέργειας Κορινθιακής σταφίδας, που συνεχίζεται μέχρι σήμερα με ικανοποιητικά αποτελέσματα. Πολλοί παραγωγοί οιναμπέλων επίσης, διάφορων περιοχών, ασχολούνται με τη βιολογική παραγωγή κρασιού. (Νικολάου 2011)

Τα πλεονεκτήματα της βιολογικής καλλιέργειας αμπελιού είναιτα εξής:

- Προστασία του περιβάλλοντος
- Προστασία της υγείας του ανθρώπου και των ζώων.
- Δημιουργία ευνοϊκών συνθηκών εργασίας στο χωράφι.
- Οικονομική διαχείριση των μη ανανεώσιμων φυσικών πόρων.
- Διατήρηση της γονιμότητας και παραγωγικότητας του εδάφους και αποφυγή διάβρωσής του.
- Χρησιμοποίηση φυσικών υλικών (κομποστοποιημένα οργανικά υλικά)
- Παραγωγή ποιοτικών προϊόντων (εύγευστα, αρωματικά).

Εκτός όμως από τα πλεονεκτήματα η βιολογική καλλιέργεια αμπελιού έχει και μειονεκτήματα. Τα κυριότερα είναι:

- Μικρή παραγωγικότητα
- Μη ελκυστική εμφάνιση των προϊόντων
- Αυξημένη τιμή διάθεσης
- Απαιτούνται περισσότερες εργασίες

1.6. Ευεργετικές ιδιότητες και διατροφική αξία σταφυλιών

Αρκετές μελέτες σε ανθρώπους έχουν δείξει μια θετική συμβολή της κατανάλωσης χυμού κόκκινων σταφυλιών στην πρόληψη των καρδιαγγειακών παθήσεων. Τα αποτελέσματα που παρατηρήθηκαν περιλαμβάνουν

- βελτιωμένη λειτουργία του ενδοθηλίου ,καλύτερη ελαστικότητα ή ικανότητα των τοιχωμάτων των αιμοφόρων αγγείων να διαστέλλονται και συστέλλονται) και
- αύξηση της αντιοξειδωτικής ικανότητας του αίματος.

Σε διάφορες μελέτες, η κατανάλωση χυμού σταφυλιών επέφερε επίσης μείωση της οξειδωσης της LDL («κακής») χοληστερόλης και μείωση του σχηματισμού θρόμβων στο αίμα (αυτά τα αποτελέσματα αναφέρονται σε παράγοντες που συμβάλλουν στη βελτίωση της υγείας καρδιαγγειακής υγείας). Αναφέρεται ότι, η κατανάλωση του χυμού κόκκινων σταφυλιών μπορεί να συμβάλει στη μείωση της LDL («κακής») χοληστερόλης και στην αύξηση της «καλής» (HDL). Τέλος, η κατανάλωση του χυμού σταφυλιών συσχετίστηκε επίσης με μείωση της πίεσης του αίματος, αποτέλεσμα , που συνδέεται επίσης με την προστασία της καρδιαγγειακής υγείας. Ορισμένοι ερευνητές διαπίστωσαν, ότι η κατανάλωση χυμού σταφυλιών μπορεί να προκαλέσει μια μικρή αύξηση σε τριγλυκερίδια του αίματος (ανεπιθύμητη ενέργεια), ωστόσο άλλες μελέτες δεν έδειξαν κανένα τέτοιο αποτέλεσμα . Το ποσό της ζάχαρης που περιέχεται στο χυμό θα μπορούσε να είναι ένας παράγοντας που επηρεάζει τα τριγλυκερίδια του αίματος, εξ ου και η σύσταση να καταναλώνεται ο χυμός του σταφυλιού χωρίς υπερβολή.

Η κατανάλωση χυμού σταφυλιών πιθανόν να έχει μια προστατευτική επίδραση έναντι ορισμένων μορφών καρκίνου. Μια μελέτη σε αρουραίους έδειξε μείωση στον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του μαστικού αδένος και μείωση του βάρους των όγκων ανάλογη με τη δόση του χυμού σταφυλιών που χορηγήθηκε. Επιπλέον, τρεις *in vitro* μελέτες έδειξαν μια προστατευτική επίδραση του χυμού κόκκινων σταφυλιών για τον καρκίνο του παχέος εντέρου και τον καρκίνο των λευκών αιμοσφαιρίων (λευχαιμία και λέμφωμα, για παράδειγμα) .Πρέπει να γίνουν περαιτέρω μελέτες ώστε να προσδιοριστεί ο βαθμός, στον οποίο αυτά τα αποτελέσματα μπορεί ισχύουν και σε ανθρώπους.

Αρκετές μελέτες σε ζώα έχουν δείξει μια ευεργετική επίδραση της κατανάλωσης χυμού σταφυλιών στη μνήμη και στις κινητικές ικανότητες, αποτέλεσμα το οποίο υποδεικνύει βελτίωση των νοητικών λειτουργιών . Οι

έρευνες όμως σε ανθρώπους βρίσκονται σε πολύ πρώιμο στάδιο. Μια πρόσφατη μελέτη, έδειξε ότι η προσθήκη 500 ml (2 φλιτζανιών) χυμού σταφυλιών στο διαιτολόγιο ατόμων με απώλεια μνήμης (χωρίς άνοια) έδειξε ότι μπορεί να συμβάλλει τις νοητικές βελτιωμένες λειτουργίες τους . Αυτά τα αποτελέσματα έχουν ενδιαφέρον στο πλαίσιο της πρόληψης της ασθένειας του Alzheimer. Βεβαίως απαιτείται επιπλέον διερεύνηση και περισσότερες μελέτες.

Πρέπει να σημειώσουμε εδώ, ότι υπάρχουν έγκυρες επιστημονικές μελέτες που αναφέρουν ότι η αντικαρκινική και καρδιοπροστατευτική δράση των σταφυλιών δεν πρέπει να αποδίδεται μόνο στα κόκκινα σταφύλια κι αυτό φαίνεται εξετάζοντας και τα συστατικά των σταφυλιών:

Ανθοκυανίνες: Οι ανθοκυανίνες είναι φαινολικές αντιοξειδωτικές ενώσεις, στις οποίες οφείλεται και το χρώμα τους. Εκτός από την περιεκτικότητα σε ανθοκυανίνες, καμία άλλη σημαντική διαφορά δεν έχει παρατηρηθεί μεταξύ κόκκινων και πράσινων σταφυλιών. Εξετάζονται επίσης πιθανές, αντιαλλεργικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιμικροβιακές ιδιότητες των ανθοκυανινών καθώς και ο ρόλος τους στην πρόληψη ορισμένων μορφών καρκίνου.

Φλαβονοειδή: Το σταφύλι περιέχει πολλά φλαβονοειδή, όπως κερσετίνη (ή κερκετίνη), μυρισετίνη, καμφερόλη, κατεχίνες, επικατεχίνες, προανθοκυανιδίνες και ανθοκυανίνες. Αυτές οι φαινολικές ενώσεις είναι ισχυρά αντιοξειδωτικά, που βοηθούν στην εξουδετέρωση των ελεύθερων ριζών στον οργανισμό και συνεπώς συμβάλλουν στην πρόληψη της εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων, και ίσως και στην πρόληψη ορισμένων μορφών καρκίνου και διάφορων άλλων χρόνιων παθήσεων. Ορισμένα φλαβονοειδή στο χυμό των σταφυλιών ενδέχεται να αναστέλλουν την δραστηριότητα ενός ενζύμου που απαιτείται για την επιβίωση καρκινικών κυττάρων . Επιπλέον, έρευνες in vitro έδειξαν ότι διάφορα φλαβονοειδή του σταφυλιού, θα μπορούσαν να λειτουργήσουν σε συνέργεια με άλλες ενώσεις που δρουν ενάντια στα καρκινικά κύτταρα

Ρεσβερατρόλη: Η ρεσβερατρόλη βρίσκεται κυρίως στον φλοιό των σταφυλιών (και ως εκ τούτου, επίσης, στο χυμό σταφυλιών και στο κόκκινο κρασί). Η ένωση αυτή, έδειξε κάποια καρδιοπροστατευτική δράση in vitro, καθώς και ιδιότητες αντιαιμοπεταλικές και αντιοξειδωτικές . Πιθανόν λοιπόν, η προληπτική αντικαρκινική δράση που φαίνεται να εμφανίζουν τα σταφύλια να οφείλεται ως ένα

βαθμό στην ρεσβερατρόλη [έχει εξεταστεί ο πιθανός προληπτικός ρόλος της ρεσβερατρόλης έναντι διαφόρων μορφών καρκίνου όπως είναι καρκίνος προστάτη και παχέος εντέρου]. Απαιτούνται οπωσδήποτε, περισσότερες οι μελέτες για τον καθορισμό της βιοδιαθεσιμότητας της ρεσβερατρόλης των τροφίμων, αλλά για πιο ακριβή καθορισμό της δράσης της και των επιδράσεών της στον ανθρώπινο οργανισμό. Ο ρόλος της ρεσβερατρόλης σε χρόνια εκφυλιστικά νοσήματα έχει κινήσει το ενδιαφέρον πολλών ερευνητών ενώ εξετάζεται επίσης ο ρόλος της σε λοιμώξεις που οφείλονται σε ιούς ή σε μύκητες. Αναφέρεται επίσης , ότι η ρεσβερατρόλη συμβάλλει στην μείωση του κινδύνου εγκεφαλικού , παρεμβαίνοντας και μεταβάλλοντας τον μοριακό μηχανισμό στα αιμοφόρα αγγεία. Αυτό γίνεται πρώτον : γιατί μειώνει της δυνατότητας βλάβης των αιμοφόρων αγγείων μέσω μείωσης της δραστηριότητας της αγγειοτασίνης (συστημική ορμόνη που προκαλεί συστολή των αιμοφόρων αγγείων, η οποία διαφορετικά, θα μπορούσε να αυξήσει την πίεση του αίματος) και δεύτερον : γιατί βοηθάει στην αυξημένη παραγωγή του αγγειοδιασταλτικού νιτρικού οξειδίου (μια ευεργετική ένωση που προκαλεί χαλάρωση των αιμοφόρων αγγείων).

Οι κυριότερες βιταμίνες και τα σημαντικότερα μέταλλα του σταφυλιού:

Τα σταφύλια περιέχουν πολλά χρήσιμα μέταλλα όπως μαγγάνιο, χαλκό, σίδηρο, κάλιο, φώσφορο και πολύτιμες βιταμίνες όπως Θειαμίνη (Βιτ Β1), ριβοφλαβίνη (Βιτ Β2) , πυριδοξίνη (Βιτ Β6), Βιταμίνη C, Βιταμίνη Α και Βιταμίνη Κ

Μέση διατροφική ανάλυση 100 γρ. σταφυλιών		
Θρεπτικό συστατικό	Τιμή	% της ΣΗΠ*
Ενέργεια	69 Kcal	3.5%
Υδατάνθρακες	18 g	14%
Πρωτεΐνες	0.72 g	1%
Ολικά λιπαρά	0.16 g	0.5%
Διαιτητικές ίνες	0.9 g	2%
Βιταμίνες		
Φυλλικό οξύ	2 µg	0.5%
Νιασίνη	0.188 mg	1%
Παντοθενικό οξύ	0.050 mg	1%
Πυριδοξίνη	0.086 mg	7.5%
Ριβοφλαβίνη	0.070 mg	5%

Θειαμίνη	0.069 mg	6%
Βιταμίνη A	66 IU	3%
Βιταμίνη C	10.8 mg	18%
Βιταμίνη E	0.19 mg	1%
Βιταμίνη K	14.6 µg	12%
Ηλεκτρολύτες		
Νάτριο	0%	1 mg
Κάλιο	191 mg	4%
Μέταλλα		
Ασβέστιο	10 mg	1%
Χαλκός	0.127 mg	14%
Σίδηρος	0.36 mg	4.5%
Μαγνήσιο	7 mg	2%
Μαγγάνιο	0.071 mg	3%
Ψευδάργυρος	0.07 mg	0.5%
Φυτοχημικά		
α-Καροτένιο	1 µg	--
β-καροτένιο	39 µg	--
Λουτεΐνη-ζεαξανθίνη	72 µg	--

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΩΧΡΑΤΟΞΙΝΟΓΟΝΟΙ ΜΥΚΗΤΕΣ

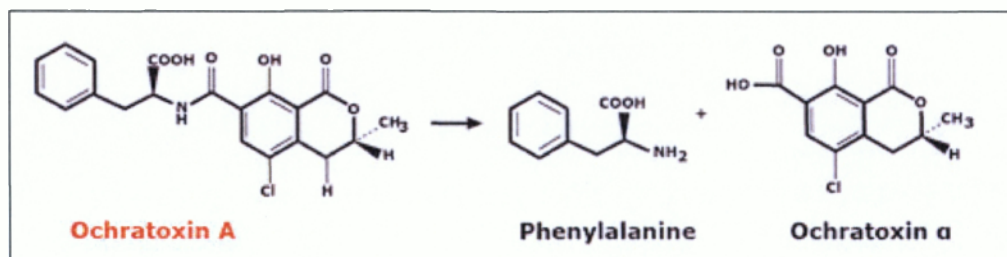
ΑΜΠΕΛΟΥ

2.1 Γενικά στοιχεία

Οι μυκοτοξίνες είναι στην ουσία τοξικοί μεταβολίτες και παράγονται από νηματοειδής μύκητες και έχουν ανιχνευθεί σε πολλά αγροτικά προϊόντα. Η ωχρατοξίνη Α (ΩΤΑ), η οποία μας ενδιαφέρει, είναι μία μυκοτοξίνη που έχει ανιχνευθεί στα σταφύλια καθώς επίσης και στα σιτηρά, στον καφέ, στο κακάο, στην μύρα, στα καρύδια στα μπαχαρικά και σε κάποια προϊόντα ζωικής προέλευσης λόγω κατανάλωσης μολυσμένων ζωοτροφών.

Η ΩΤΑ παράγεται από κάποια ενδημικά στελέχη του μύκητα *Aspergillus* και *Penicillium* (συγκεκριμένα έχει μελετηθεί η παραγωγή ΩΤΑ από στελέχη των μυκήτων *A. nigr*i, *A. carbonarius*, *A. alliaceus*, *A. sclerotiorum*, *A. sulfur*ous, *A. albertensis*, *A. auricomus* *A. wenti* και *P. verrucosum* με τους δυο πρώτους να ποτελούν την κύρια πηγή της στα σταφύλια και το κρασί και με τον τελευταίο να μολύνει τα σιτηρά), οι *A. nigr*i και *A. carbonarius* ενδημούν σε ξηροθερμικές περιβαλλοντικές συνθήκες και επιβιώνουν σε συνθήκες χαμηλής ενεργότητας νερού, όπως αυτές που επικρατούν στο εσωτερικό της ρώγας του σταφυλιού κατά την διαδικασία ωρίμανσης των σταφυλιών, γενικά επιμολύνουν γεωργικά προϊόντα σε ολόκληρο τον κόσμο, είτε πριν τη συγκομιδή είτε κατά τη διάρκεια της αποθηκεύσεώς τους.

Η χημική δομή της ΩΤΑ την καθιστά χημικά σταθερή στο χρόνο, σταθερή σε υψηλές θερμοκρασίες όπως κατά την αποστείρωση ή το μαγείρεμα και διαλυτή σε νερό και αιθανόλη.



Εικόνα 2.1.1 Χημικός τύπος ωχρατοξίνης Α, φαινυλαλανίνης και ωχρατοξίνης α

Η ΩΤΑ είναι μία χρωριομένη ίσοκουμαρινική ένωση με μοριακό τύπο $C_2H_{18}ClNO_6$ και μοριακό βάρος 403,86 g/mol., συχνά περιγράφεται σαν μια ένωση φαινυλαλανίνης και κουμαρίνης λόγω της χημικής ομοιότητας (Εικόνα 2.1.1). Ο κύριος μηχανισμός δράσης της είναι η αναστολή της σύνθεσης των πρωτεϊνών, συνεπώς όλα τα κυτταρικά συστήματα που επηρεάζονται από την φαινυλαλανίνη ή τη χρησιμοποιούν σαν υπόστρωμα αποτελούν πιθανό στόχο της ΩΤΑ. Ένα από τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά της είναι ο μεγάλος χρόνος ημιζωής που παρουσιάζει στον άνθρωπο.

2.2 Προ και μετασυλλεκτικές ασθένειες των σταφυλίων και μολύνσεις των προϊόντων τους

Από τους εχθρούς του σταφυλίου, οι κυριότεροι στους οποίους συνιστάται προσοχή στην Ελλάδα είναι οι εξής:

- Ψευδόκοκκοι
- Ευδεμίδα
- Θρίπες

Το κλίμα της χώρας μας είναι ευνοϊκό για την καλλιέργεια της αμπέλου αλλά και για την ανάπτυξη κάποιων σοβαρών ασθενειών από τις οποίες οι κυριότερες είναι:

- Περονόσπορος
- Βοτρύτης
- Ωίδιο

Ωγρατοξίνη Α

Η προέλευσή της ΩΤΑ σχετίζεται με την ευρύτερη περιοχή της νοτιοανατολικής Μεσογείου η οποία σχετίζεται με υψηλά ποσοστά επιμόλυνσης των σταφυλίων από *Aspergillus Nigri*, εξαιτίας της υψηλής θερμοκρασίας και ηλιοφάνειας κατά την διάρκεια της ημέρας, σε συνδυασμό με τις χαμηλές βροχοπτώσεις τον Αύγουστο.

Η ΩΤΑ έχει ανιχνευθεί σε πολλά τρόφιμα και ροφήματα συμπεριλαμβανομένου του σταφυλοχυμού και του κρασίου όπου για πρώτη φορά

καταγράφηκε από τους Zimmerli και Dick (1995). Η ανίχνευση της στο κρασί έχει αναφερθεί από πολλούς ερευνητές στην τελευταία δεκαετία (Belli et al., 2002, Blesa et al., 2006, Varga and Kozakiewicz, 2006). Η τοξίνη έχει ανιχνευθεί σε πολλά είδη κρασιού τα οποία έχουν προέλθει από αμπέλια που έχουν καλλιεργηθεί σε διάφορες γεωγραφικές περιοχές κάτω από διαφορετικές κλιματικές συνθήκες και γεωργικές πρακτικές.

Τα στελέχη των μυκήτων *Aspergillus* διαχειμάζουν στο έδαφος. Τα μυκλιακά κονίδια, τα οποία ενδημούν στην επιφάνεια της ρώγας, πολλαπλασιάζονται κατά την ωρίμανση και δημιουργούν ασκοσπόρια στο σταφύλι, προκαλώντας σάπισμα στις προσβεβλημένες ρώγες, οι οποίες συρρικνώνονται και ξεραίνονται (ασθένεια μαύρης σήψης).

Από μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί σε διάφορες χώρες προκύπτει ότι η συγκέντρωση της ΩΤΑ στο κρασί ακολουθεί τη σχέση: λευκό<ροζέ<κόκκινο<επιδόρπιο κρασί. Η συγκέντρωσή της στα προϊόντα των σταφυλίων και του κρασιού συνήθως ποικίλει από 0,01-3,5μg/l και είναι υψηλότερη σε τρόφιμα που προέρχονται από τις νότιες περιοχές σε σχέση με τις βόρειες περιοχές της Ευρώπης. Η ανίχνευση της ΩΤΑ στο κρασί συνδέεται με την ύπαρξη μυκήτων στα σταφύλια. Κάποιοι ερευνητές αναφέρουν ότι ο *Aspergillus carbonarius* είναι ο πιο ωχρατοξινογόνος μύκητας στα σταφύλια (Abarca et al., 2001, Magnoli et al., 2004). Ο υψηλή συχνότητα εμφάνισης του *A. carbonarius* στις πιο θερμές και ξηρές περιοχές οφείλεται στην ανθεκτικότητα των «μαύρων *Aspergilli*» στη ζέση και την υπεριώδη ακτινοβολία (Benford et al., 2001), ενώ στις πιο ψυχρές περιοχές οι μύκητες του γένους *Penicillium* αποτελούν την κύρια πηγή ΩΤΑ.

Πίνακας 2.2.1: Ανίχνευση ΩΤΑ σε φρουτοχυμούς, μούστο, κρασί και σε ξίδια (Magan & Olsen, 2004).

Juices, musts and fruit pulp	Maximum (mean) toxin level (ng/l)	References
Red grape juice, Switzerland	311	Zimmerli and Dick, 1996
Red grape juice, Germany	5300	Majerus et al., 2000
White grape juice, Germany	1300	Majerus et al., 2000
Pulp of frozen grapes, Brazil	35,4	Rosa et al., 2004
Red grape juices, Brazil	100	Rosa et al., 2004
Grape juices, Poland	64,7	Czerwiecki et al., 2005

French musts	461	Sage et al., 2002
Spanish musts	813	Belli' et al., 2004
Tunisian musts	4300	Fredj et al., 2007
Wines		
Red wine, Switzerland	388	Zimmerli and Dick, 1996
Rose wine, Switzerland	123	Zimmerli and Dick, 1996
White wine, Switzerland	178	Zimmerli and Dick, 1996
Red wine, Germany	7000	Majerus and Otteneder, 1996
Rose wine, Germany	2400	Majerus and Otteneder, 1996
Red wine, France	270	Ospital et al., 1998
Rose wine, France	110	Ospital et al., 1998
White wine, France	20	Ospital et al., 1998
Commercial red wine, Italy	7630	Visconti et al., 1999
Commercial rose wine, Italy	1150	Visconti et al., 1999
Commercial white wine, Italy	970	Visconti et al., 1999
European red wine	603	Burdaspal and Legarda, 1999
European rose wine	161	Burdaspal and Legarda, 1999
European white wine	267	Burdaspal and Legarda, 1999
Southern Italy red wine	3177	Pietri et al., 2001
Southern Italy dessert wine	3856	Pietri et al., 2001
Morocco red wine	3240	Filali et al., 2001
Morocco rose wine	540	Filali et al., 2001
Morocco white wine	180	Filali et al., 2001
Mediterranean red wine	3400	Markaki et al., 2001
Spanish red wine	316	Lopez de Cerain et al., 2002
Spanish white wine	208	Lopez de Cerain et al., 2002
Northern Greece red wine	2690	Stefanaki et al., 2003
Northern Greece rose wine	1160	Stefanaki et al., 2003
Northern Greece white wine	1720	Stefanaki et al., 2003
Dessert wines, Greece	2820	Stefanaki et al., 2003
South African red wine	380	Shephard et al., 2003
South African white wine	300	Shephard et al., 2003
Portuguese wine	2100	Ratola et al. 2004
Brazilian red wine	42,4	Rosa et al., 2004

Brazilian white wine	28,2	Rosa et al., 2004
Brazilian rose wine	35,4	Rosa et al., 2004
Argentina red wine	42,4	Rosa et al., 2004
Chile red wine	70,7	Rosa et al., 2004
Canadian red wine	393	Ng et al., 2004
Canadian white wine	156	Ng et al., 2004
Red wines, Poland	6710	Czerwiecki et al., 2005
Vinegars		
Wine vinegar	1900	Majerus et al., 2000
Balsamic vinegar	252	Markaki et al., 2001

Σύμφωνα με το κώδικα τροφίμων (Codex Alimentarius), το 15% της συνολικής ποσότητας ΩΤΑ βρίσκεται στο κρασί, το οποίο αποτελεί τη δεύτερη κύρια πηγή ΩΤΑ μετά τα σιτηρά (Πίνακας 2.2.2) (Codex Alimentarius Commission, 1998, JECFA, 2001). Το σταφύλι περιέχει περισσότερη ΩΤΑ σε σχέση με το κρασί, καθιστώντας τον κίνδυνο πρόσληψης της τοξίνης από τα παιδιά μεγαλύτερο (Zimmerly & Dick, 1996).

Πίνακας 2.2.2: Η συνεισφορά των διαφόρων κατηγοριών τροφίμων στη πρόσληψη της ΩΤΑ από τον άνθρωπο (JECFA, 2001).

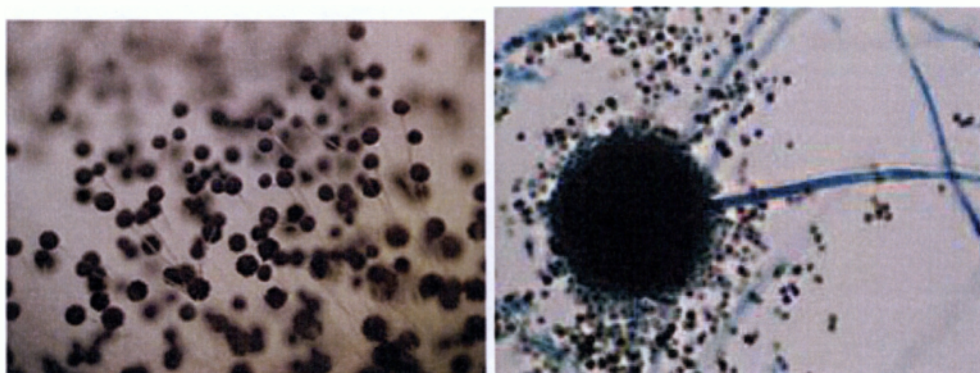
Food category	Contamination (μg/kg)	Intake		
		(g)	μg /person per week	ng/kg bw per week
Cereals	0.94	230	1.5	25
Wine	0.32	240	0.54	8.9
Grape juice	0.39	69	0.19	3.1
Roasted coffee	0.76	24	0.13	2.1
Pork	0.17	76	0.09	1.5
Beer	0.023	260	0.04	0.69
Dried foods	2.2	2.3	0.03	0.58
Pulses	0.19	25	0.03	0.55
Cocoa	0.55	6.3	0.02	0.40
Poultry	0.041	53	0.02	0.25
Tea	0.3	2.3	0.00	0.08

Λαμβάνοντας υπόψιν τις παραπάνω πληροφορίες συμπεραίνεται ότι, η μίανση των σταφυλιών και του κρασιού με ΩΤΑ αποτελεί παγκόσμιο πρόβλημα. Οι

διαφορετικές παρατηρήσεις που προκύπτουν, όσον αφορά την ανίχνευση και τη συγκέντρωση της ΩΤΑ σε μια περιοχή κατά τη διάρκεια του έτους (διαφορετικές εποχές), οφείλονται σε πολλούς παράγοντες (το μέγεθος του πληθυσμού του μύκητα, τις κλιματικές συνθήκες, τη γεωργική διαχείριση) οι οποίοι επηρεάζουν την ανάπτυξη του μύκητα και την παραγωγή τοξίνης.

2.3 Ο ωχρατοξινογόνος μύκητας *Aspergillus carbonarius*

Ένας μεγάλος αριθμός μελετών έχει εστιαστεί σήμερα στη συσσώρευση της ΩΤΑ στα σταφύλια, στο κρασί και στους χυμούς καθώς και στους μύκητες που την παράγουν. Γενικά έχει σημειωθεί ότι στις εύκρατες περιοχές η ΩΤΑ παράγεται από το *P.verrucosum* ενώ στις τροπικές και υποτροπικές περιοχές από στελέχη του γένους *Aspergillus* (Abarca et al., 1994, Varga et al., 1996). Μέχρι το 1996 επικρατούσε ότι, η παραγωγή ΩΤΑ στα σταφύλια οφείλονταν μόνο στην ανάπτυξη του *A.ochraceus* από όλα τα είδη του γένους *Aspergillus*, παρόλο που είχε καταγραφεί η ικανότητα παραγωγής της τοξίνης από το *A.niger* var. *niger* (Abarca et al., 1994). Στη συνέχεια οι σποριογόνοι μύκητες *A.carbonarius* και *A.niger* αναγνωρίστηκαν ως κύρια πηγή παραγωγής της εν λόγω τοξίνης εξαιτίας των σημαντικών ποσοτήτων ΩΤΑ που ανιχνεύθηκαν σε σταφυλοχυμό και κρασί από τους Zimmerly και Dick (1996). Γενικά ο *A.carbonarius* ομοιάζει σε πολλά χαρακτηριστικά με τον *A.niger* με κύρια μορφολογική διαφορά την παραγωγή μεγαλύτερων σπορίων (Klich and Pitt, 1988).



Εικόνα 2.3.1: Κονιδιοφόροι *A.carbonarius* (αριστερά) και κονιδιοφόρος *A.niger* (δεξιά).

Η παραγωγή ΩΤΑ από μύκητες και συγκεκριμένα από «μαύρους *Aspergillus*» έχει επισημανθεί και καταγραφεί από τους Battilani and Pietri (2004).

Σε μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σε σταφύλια της νότιας Γαλλίας, οι Sage et al., (2002) έδειξαν ότι ο *A.carbonarius* ήταν το μόνο είδος που παρήγαγε ΩΤΑ παρόλο που μόνο τα 6 από τα 11 δείγματα σταφυλιών μολύνθηκαν με ωχρατοξινογόνα στελέχη. Τα επίπεδα ΩΤΑ που ανιχνεύθηκαν ήταν μεταξύ 0.5 και 87.5 $\mu\text{g/g}$. Από τους υψηλούς πληθυσμούς των *Aspergilli* που καταγράφηκαν από τους Sage et al., (2004) σε 60 δείγματα σταφυλιών, μόνο τα στελέχη *A.carbonarius* ήταν ωχρατοξινογόνα με παραγόμενες συγκεντρώσεις πάνω από 1.9 $\mu\text{g/g}$.



Εικόνα 2.3.2: Προσβολή σταφυλιών από τον ωχρατοξινογόνο μύκητα *A.carbonarius*.

Ο *A.carbonarius* έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται και να παράγει τοξίνη σε ένα μεγάλο εύρος pH και θερμοκρασιών (Esteban et al., 2005). Από όλα τα είδη του γένους *Aspergillus* που απομονώθηκαν από 10 αμπέλια της Γαλλίας σε διαφορετικές κλιματικές συνθήκες, οι «μαύροι *Aspergilli*» ήταν οι πιο πολλοί συχνοί παθογόνοι (99%) (Bejaoui et al., 2006) ενώ από τα 3 είδη που απομονώθηκαν (*A.carbonarius*, *A.Japonicus* και *A.niger*) μόνο ο *A. carbonarius* παρήγαγε ΩΤΑ (πάνω από 37.5 $\mu\text{g/g}$). Η επίδραση των διαφορετικών pH στην παραγωγή ΩΤΑ είναι πολύ σημαντική καθώς η σάρκα των σταφυλιών και ο σταφυλοχυμός είναι πολύ όξινα ($\text{pH} < 4.5$). Η ανάπτυξη του μύκητα είναι καλύτερη σε pH 4 και 7 απ'ότι σε pH 2.6, ανεξαρτήτως του επιπέδου της aw. Αν και έχει βρεθεί ότι οι υψηλότερες τιμές ΩΤΑ παράγονται σε pH 7 απ'ότι σε 4.5, ωστόσο το ουδέτερο pH δεν είναι μια κατάσταση που συναντάται στο κρασί, στο σταφυλοχυμό και στα σταφύλια. Η υψηλή παραγωγή ΩΤΑ σε pH 2.8 και pH 7 ίσως οφείλεται στις ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες που ευνοούν την ανάπτυξη των μυκήτων και τη παραγωγή της τοξίνης σε τέτοια pH απ'ότι σε pH 4.5 (Mitchell, 2006). Οι άριστες

συνθήκες παραγωγής ΩΤΑ από τον *A.carbonarius* αναφέρονται γύρω στους 15–20oC και σε ενεργότητα ύδατος 0.95-0.98 (Mitchell et al., 2004, Belli et al., 2004, Esteban et al., 2006, Leong et al., 2006d). Η παραγωγή τοξίνης από τον *A.carbonarius* έχει ανιχνευθεί κυρίως σε aw 0.97 (Leong et al., 2006d, Valero et al., 2006a). Σε μελέτες που έγιναν σε Ισπανικά σταφύλια, από τους «μαύρους» *Aspergilli* που υπήρχαν σε αυτά, όλα (Bau et al., 2005) ή τα περισσότερα (Belli et al., 2006b) στελέχη *A.carbonarius* ήταν ικανά να παράγουν ΩΤΑ και συγκεκριμένα στα τελευταία στάδια ανάπτυξης, ενώ από τα στελέχη *A.niger* και *A.japonicus* var. *Aculeatus* κανένα δεν παρήγαγε τοξίνη. Το ίδιο αποτέλεσμα διαπιστώθηκε και σε σταφύλια της Αυστραλίας (Leong et al., 2006, 2007).

Επίσης οι Pollastro et al. (2006) σε μια μελέτη που πραγματοποίησαν στη νότια Ιταλία, έδειξαν ότι η συχνότητα εμφάνισης των «μαύρων *Aspergilli*» στα σταφύλια μειώνεται σύμφωνα με την ακόλουθη σειρά: *A.niger*>*A.carbonarius*>*A.aculeatu*>*A.wentii*. Από τους συγκεκριμένους μύκητες μόνο ο *A.carbonarius* παρήγαγε ΩΤΑ.

2.4 Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των ωχρατοξινογόνων μυκήτων

Οι σημαντικότεροι παράγοντες που επηρεάζουν ή διευκολύνουν την δημιουργία σπορίων, με αποτέλεσμα την επιμόλυνση με *Aspergillus*, είναι η ενεργότητα νερού, η θερμοκρασία και η αλληλεπίδρασή τους με τη διατροφική αξία του υποστρώματος.

Στα σταφύλια, η παραγωγή ΩΤΑ από το μύκητα φαίνεται να έχει άμεση εξάρτηση από τις κλιματολογικές συνθήκες: η βροχή κατά τη διάρκεια της δημιουργίας σπορίων προκαλεί ανομοιογενή κατανομή υγρασίας και προκαλεί υψηλό κίνδυνο επιμόλυνσης με ΩΤΑ. Κύριος παράγοντας ακόμα είναι και ο χρόνος που παραμένει το προϊόν (σταφύλια και γενικά των ευαίσθητων στην ΩΤΑ αγροτικών προϊόντων) υπό δυσμενείς συνθήκες κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας, της συγκομιδής ή της αποθηκεύσεως.

Άλλοι παράγοντες που ευνοούν την παρουσία των σπορίων είναι οι μηχανικοί παράγοντες (το εσωτερικό μέρος του σταφυλιού και γενικά του ευαίσθητου προϊόντος στην ΩΤΑ, είναι πιο ευάλωτο στην δράση των μυκήτων συγκριτικά με το εξωτερικό μέρος), τα έντομα (με το μεταβολισμό τους αυξάνουν την υγρασία του υποστρώματος και τη θερμοκρασία κι έτσι διασπούν το

προστατευτικό εξωτερικό μέρος του φυτού), οι τραυματισμοί που προκαλεί η βροχή και η καταιγίδα, η διαθεσιμότητα των μεταλλικών συστατικών, το pH (γενικά η μούχλα είναι ανθεκτική σε όξινα μέσα και συχνά είναι ικανή να καθιστά το pH του υποστρώματος όξινο), τα επίπεδα του οξυγόνου και του διοξειδίου του άνθρακα, χημικοί και φυσικοί χειρισμοί και σε ορισμένα προϊόντα η επανύγρανση και η αποξήρανσή τους.

2.5 Μέθοδοι ανίχνευσης μυκοτοξινών

2.5.1 Γενικά

Όπως αναφέρθηκε οι μυκοτοξίνες είναι πολύ σημαντικοί μεταβολίτες των μυκήτων και αποτελούν έναν πιθανό κίνδυνο για την υγεία του ανθρώπου και των ζώων. Ο όρος μυκοτοξίνη (mycotoxin) καλύπτει ένα ευρύ φάσμα συστατικών με διαφορετικές χημικές δομές και επιπλέον διάφορες τοξικές επιδράσεις. Ο κίνδυνος στον οποίο εκτίθεται ο άνθρωπος από τις μυκοτοξίνες επαναξιολογείται συνεχώς και για ορισμένες μυκοτοξίνες έχουν θεσπιστεί μέγιστα εφαρμόσιμα όρια. Για αυτόν τον λόγο, είναι αναγκαία η ύπαρξη αναλυτικών μεθόδων για την εξασφάλιση της ύπαρξης μυκοτοξινών στα τρόφιμα πάνω από τα επιτρεπόμενα όρια. Οι μέθοδοι ανίχνευσης μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως εξής (Ιωάννου, 2005):

1. Χημικές μέθοδοι:

- Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (High Performanc Liquid Chromatography, “HPLC”)
- Αέριος- υγρή χρωματογραφία (Gas Liqui Chromatography, “GLC”)
- Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (Thin Layer Chromatography, “TLC”)
- Φασματομετρία μάζας (Mass Spectrometry, “MS”)

2. Ανοσολογικές μέθοδοι:

- Χρωματογραφία στήλης ανοσοσυγγένειας- φθορισμομετρία (ImmunoAffinity Column Chromatography, “IACC” Fluorometry)
- ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay)

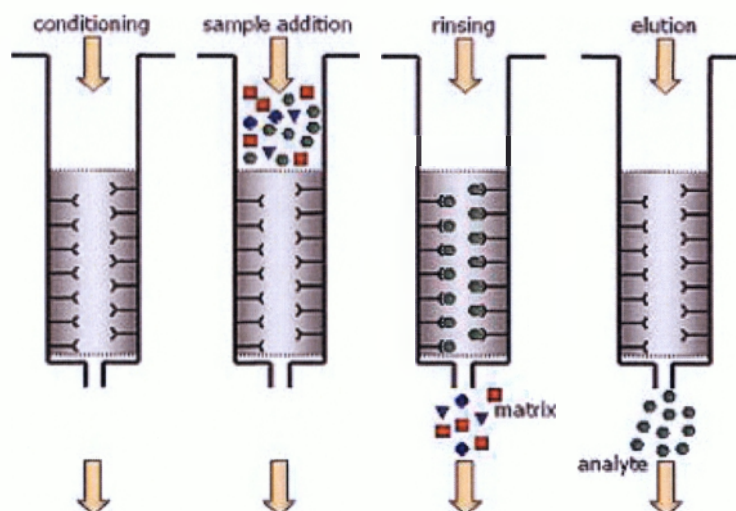
3. Συνδυασμός χημικών και ανοσολογικών μεθόδων

- IACC- HPLC
- IACC- GLC
- IACC- TLC

Από τις παραπάνω μεθόδους η πιο δημοφιλής, για την ανίχνευση ωχρατοξίνης Α, τα τελευταία χρόνια, είναι η χρωματογραφία στήλης ανοσοσυγγένειας.

2.5.2 Στήλες ανοσοσυγγένειας

Η χρήση των στηλών ανοσοσυγγένειας (Immunoaffinity Columns) έγινε ιδιαίτερα δημοφιλής τα τελευταία χρόνια, κυρίως λόγω της υψηλής τους εκλεκτικότητας. Είναι εύκολο να χρησιμοποιηθούν για τον καθαρισμό των δειγμάτων, τα οποία είναι μiasμένα με κάποια μυκοτοξίνη. Γενικά χρησιμοποιούνται για τον καθαρισμό και τη συμπύκνωση των τοξινών από πολύπλοκα δείγματα τροφίμων, πριν την ανίχνευση και τον προσδιορισμό τους με κλασικές αναλυτικές τεχνικές όπως GC, HPLC και TLC.



Εικόνα 2.5.2: Βασική αρχή λειτουργίας των στηλών ανοσοσυγγένειας (European Mycotoxin Awareness Network, 2007)

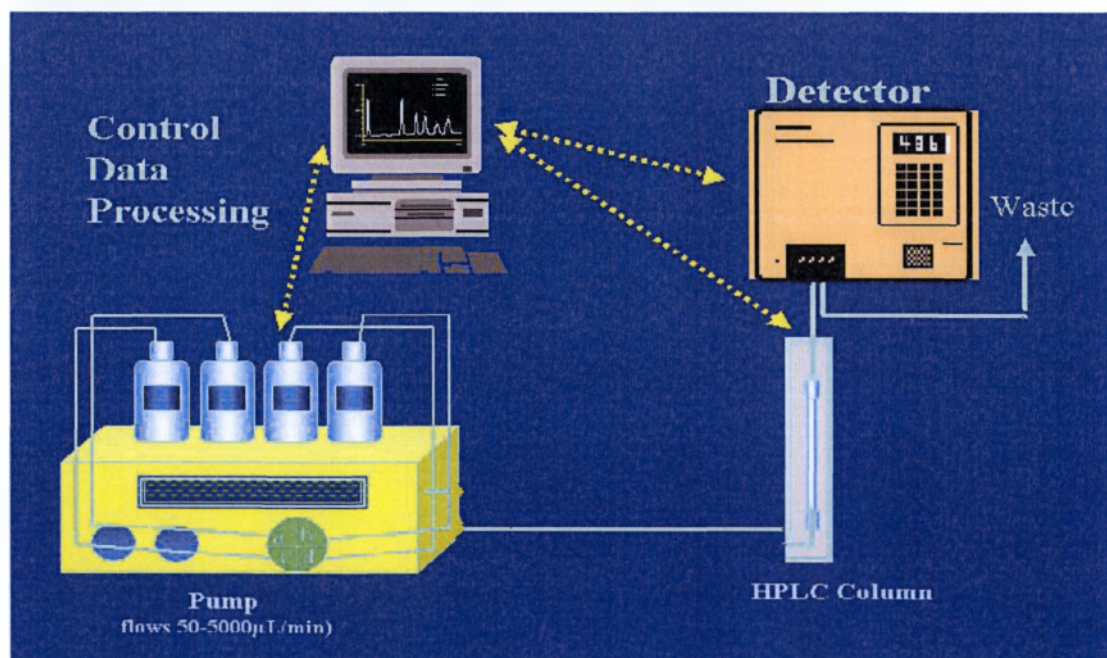
Η μήτρα της στήλης ανοσοσυγγένειας περιλαμβάνει μια στερεή φάση, στην οποία υπάρχουν δεσμευμένα αντισώματα. Αφού πρώτα προηγηθεί ένα “conditioning” της στήλης, στη συνέχεια εφαρμόζεται το δείγμα στη στήλη και η περιεχόμενη σε αυτό τοξίνη δεσμεύεται από το αντίστοιχο ακινητοποιημένο

αντίσωμα. Από τη στιγμή που τα συστατικά της μήτρας δεν αλληλεπιδρούν με τα αντισώματα, αρκεί ένα στάδιο έκπλυσης για την απομάκρυνσή τους. Οι συγκεκριμένες στήλες είναι εμπορικά διαθέσιμες, έχουν υψηλό κόστος και μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνο μια φορά. Βρίσκουν εφαρμογή στην ωχρατοξίνη Α, στη ζεαραλενόνη, στις φουμονισίνες και στη DON. (European Mycotoxin Awareness Network, 2007)

2.6 Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC)

2.6.1. Εισαγωγή- βασικές αρχές

Στην υγρή χρωματογραφία στήλης, η στατική φάση είναι στερεό πορώδες υλικό ή υγρό καθηλωμένο σε στερεό υπόστρωμα, που βρίσκεται συσκευασμένο σε στήλη, ενώ η κινητή φάση είναι υγρό. Στην υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης χρησιμοποιούνται αντλίες υψηλής πίεσης και η στατική φάση αποτελείται από σωματίδια μικρής διαμέτρου με μεγάλη αντίσταση και υψηλή διαχωριστική απόδοση. (Χατζηωάννου, 1998)



Εικόνα 2.6.1.1: Υγρός χρωματογράφος υψηλής απόδοσης.

2.6.2. Οργανολογία

Μια συσκευή HPLC αποτελείται από τα εξής τμήματα: α) δοχείο κινητής φάσης-διαλύτης, β) αντλία, γ) σύστημα εισαγωγής δείγματος, δ) στήλη, ε) ανιχνευτής και στ) καταγραφέας ή ηλεκτρονικός υπολογιστής-εκτυπωτής.

Το δοχείο ή τα δοχεία κινητής φάσης ή φάσεων είναι συνήθως γυάλινης κατασκευής και χωρητικότητας τουλάχιστον 500ml. Στο σωλήνατροφοδοσίας προσαρμόζεται ειδικό φίλτρο (2μm) που παρεμποδίζει τη μεταφορά σωματιδίων που μπορούν να δημιουργήσουν πρόβλημα στην αντλία. Ο διαλύτης ή το σύστημα διαλυτών που χρησιμοποιείται πρέπει να είναι υψηλής καθαρότητας (HPLC grade) και να έχει απαερωθεί (degassed). Η αντλία είναι η καρδιά ενός συστήματος HPLC. Βασική απαίτηση είναι η σταθερότητα της ταχύτητας ροής (παροχής) της κινητής φάσης.

Η αντλία είναι υψηλής πίεσης (14-16.000psi) και συνδυάζεται με σύστημα για τη βαθμιαία αλλαγή της σύστασης της κινητής φάσης. Σε αντίθεση με την ισοκρατική έκλουση, στην οποία η κινητή φάση έχει σταθερή σύσταση, στη βαθμιδωτή έκλουση (gradient elution) η σύσταση της κινητής φάσης μεταβάλλεται βαθμιαία.

Η έγχυση του δείγματος γίνεται με σύριγγα. Ο θάλαμος έγχυσης του δείγματος είναι εφοδιασμένος με βαλβίδα εισαγωγής η χωρητικότητα της οποίας κυμαίνεται από 1-500μl. Η βαλβίδα στη θέση "πλήρωσης" συγκρατεί ποσότητα δείγματος, ενώ στη θέση "εισαγωγής" εισάγει το δείγμα στη στήλη. Η ποιότητα της βαλβίδας κρίνεται κατ' αρχήν από την ακρίβεια εισαγωγής του δείγματος. Σημαντικό ρόλο παίζει η κεφαλή, γιατί από το σχήμα της εξαρτάται η κατανομή ταχυτήτων της κινητής φάσης, μέσα στη στήλη. Φυσικά σημασία έχει και η ποιότητα των υλικών κατασκευής, τα οποία θα πρέπει να είναι από αδρανή ως προς την χρησιμοποιούμενη κινητή φάση υλικά. Επίσης, υπάρχουν βαλβίδες εισαγωγής που η λειτουργία τους ελέγχεται αυτόματα από την κεντρική μονάδα ελέγχου του συστήματος HPLC, αν και πολλοί χρήστες προτιμούν για διάφορους λόγους χειροκίνητο χειρισμό.

Το υλικό κατασκευής της στήλης είναι συνήθως ανοξείδωτος χάλυβας. Χαρακτηριστικό είναι το πάχος των τοιχωμάτων της στήλης (2-3mm) για να αντέχει τις υψηλές πιέσεις που αναπτύσσονται κατά τη λειτουργία του συστήματος. Το μήκος της στήλης κυμαίνεται από 10-100cm. Συνήθως κατασκευάζονται στήλες μήκους 25-30cm. Η αποτελεσματικότητα μιας στήλης κρίνεται από τον αριθμό των

θεωρητικών πλακών. Από μια πρώτη άποψη είναι φανερό ότι μια μακριά στήλη ή μια σειρά στηλών θα έχει οπωσδήποτε μεγάλο αριθμό θεωρητικών πλακών. Όμως ταυτόχρονα η διάρκεια του διαχωρισμού θα είναι μεγαλύτερη. Αύξηση του αριθμού των θεωρητικών πλακών μπορεί να επιτευχθεί με μείωση της διαμέτρου των κόκκων του πληρωτικού υλικού. Συνήθως οι κόκκοι είναι διαμέτρου 5-10μm, ενώ υπάρχουν και κόκκοι 3μm, οι οποίοι βέβαια δίνουν ένα σημαντικό μειωμένο Υ.Ι.Θ.Π. (ύψος ισοδύναμο με μια θεωρητική πλάκα), επιτρέπουν τη χρήση στηλών μικρού μήκους και άρα ταχύτατους διαχωρισμούς. Το μέγεθος των κόκκων δεν πρέπει να είναι μόνο μικρό αλλά και ομοιόμορφο, το δε σχήμα σφαιρικό. Σε υψηλής ποιότητας στήλες η απόκλιση από τη διάμετρο των κόκκων είναι μικρότερη του $\pm 2\%$, το σχήμα σχεδόν απόλυτα σφαιρικό και η κατανομή των πόρων ομοιόμορφη. Βασικά στοιχεία καθορισμού του αριθμού των θεωρητικών πλακών είναι η σταθερότητα παροχής της αντλίας καθώς και η ελάχιστη παροχή. Μικρή παροχή συνεπάγεται πτώση της πίεσης.

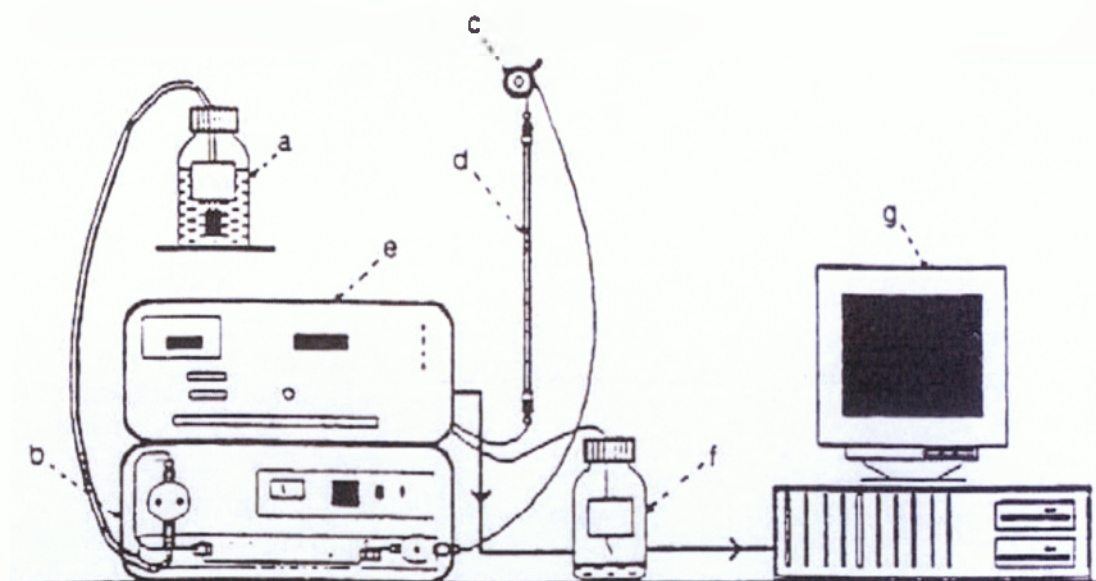
Επίσης σημαντικός παράγοντας είναι η εσωτερική διάμετρος της στήλης. Σε μια λεπτή στήλη, η ταχύτητα της κινητής φάσης είναι περίπου ίση στο κέντρο της στήλης και στα τοιχώματα της, πράγμα που δε συμβαίνει σε μια "φαρδιά" στήλη. Συνεπώς μια λεπτή στήλη απαιτεί μικρότερη ποσότητα δείγματος και φυσικά διαλύτη, επιτρέποντας την εξοικονόμηση διαλύτη έως και 80%. Το υλικό πλήρωσης της στήλης, ως προς τη φύση του μπορεί να είναι: α) πορώδες, με βάση την πυριτική γη (silica), β) μη πορώδες (pellicular) και γ) σκληρή πηκτή, με βάση το πολυστυρόλιο. Τα υλικά αυτά αντέχουν σε πιέσεις μέχρι 5.000 psi.

Η στατική φάση μπορεί να επικαλυφθεί στο αδρανές υλικό: α) φυσικά, κατόπιν διάλυσης της στατικής φάσης στον κατάλληλο διαλύτη, προσθήκης του αδρανούς υλικού, ανάμειξης και απομάκρυνσης του διαλύτη με εξάτμιση υπό κενό ή β) χημικά, οπότε προκύπτει η λεγόμενη δεσμευμένη στατική φάση, όπου συνήθως χρησιμοποιούνται υποστρώματα με βάση την πυριτική γη επί της οποίας με χημική αντίδραση προστίθεται η επιθυμητή ομάδα.

Η HPLC ανάλογα με την πολικότητα της στατικής και της κινητής φάσης διακρίνεται σε: α) κανονικής φάσης (normal phase), όπου η υγρή στατική φάση είναι πολική, η κινητή φάση σχετικά μη πολική και χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό πολικών (υδατικών) ουσιών οι οποίες εκλούνται τελευταίες από τη στήλη και β) ανεστραμμένης φάσης (reversed phase), όπου η υγρή στατική φάση είναι μη πολική, η κινητή φάση πολική και χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό μη πολικών ουσιών.

Ανάλογα με τη φύση των ουσιών που πρόκειται να αναλυθούν, ως ανιχνευτής μπορεί να χρησιμοποιηθεί φωτόμετρο, διαφορικό διαθλασίμετρο, ηλεκτοχημικός (αμπερομετρικός) ανιχνευτής και φθορισμόμετρο.

Ο καταγραφέας αποτελεί το φθηνότερο και απλούστερο τρόπο παρουσιάσεως του χρωματογραφήματος. Τα σύγχρονα συστήματα HPLC, αντί καταγραφέα είναι εφοδιασμένα με ηλεκτρονικό υπολογιστή και εκτυπωτή. (Λιοδάκης 1986, Πολυσίου, 1989, Χατζηιωάννου, 1998, Ταραντίλης και Πολυσίου, 2001)



Εικόνα 2.6.2: Τα βασικά τμήματα χρωματογράφου HPLC: a) δοχείο κινητής φάσης-διαλύτης, b) αντλία, c) σύστημα εισαγωγής δείγματος, d) στήλη, e) ανιχνευτής, f) δοχείο αποβλήτων κινητής φάσης, g) ηλεκτρονικός υπολογιστής. (Ταραντίλης, 2001)

2.6.3 Επίτευξη επιθυμητού διαχωρισμού

Τα περισσότερα μείγματα ουσιών μπορούν να διαχωριστούν και να αναλυθούν με την HPLC, αρκεί να επιλεγεί το κατάλληλο σύστημα στατικής και κινητής φάσης ή πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης.

Ένας επιτυχής διαχωρισμός στηρίζεται στην ισορροπία κατανομής του δείγματος μεταξύ κινητής (διαλύτη) και στατικής φάσης. Για να είναι επιτυχής ο διαχωρισμός θα πρέπει το δείγμα να μοιάζει χημικά (π.χ. πολικότητα) με τη στατική φάση και όχι με τον διαλύτη.

Στην χρωματογραφία κανονικής φάσης, η πολικότητα των διαλυτών που χρησιμοποιούνται κυμαίνεται από χαμηλή μέχρι μέτρια. Με την τεχνική αυτή το χαμηλής πολικότητας συστατικό θα εκλουστεί πρώτο και με αύξηση της πολικότητας του διαλύτη για δεδομένη στατική φάση προκύπτει ελάττωση του χρόνου κατακράτησης των συστατικών.

Αντίστροφα, με την τεχνική της ανεστραμμένης φάσης, η πολικότητα των διαλυτών κυμαίνεται από μέτρια μέχρι υψηλή. Το υψηλής πολικότητας συστατικό θα εκλουστεί πρώτο και με αύξηση της πολικότητας του διαλύτη για δεδομένη στατική φάση προκύπτει αύξηση του χρόνου κατακράτησης των συστατικών.

Στην HPLC ανάλυση για την επίτευξη επιθυμητού διαχωρισμού χρησιμοποιείται η τεχνική της βαθμιδωτής έκλουσης. Δηλαδή κατά τη διάρκεια του διαχωρισμού, κατόπιν προγραμματισμού του οργάνου, μεταβάλλεται η σύσταση και συνεπώς η πολικότητα του διαλύτη, με αποτέλεσμα να επιτυγχάνεται καλύτερος διαχωρισμός των συστατικών του αναλυόμενου δείγματος. (Πολυσίου, 1989, Χατζηγιάννου, 1998, Ταραντίλης, 2001)

2.7 Προβλήματα που προκαλεί η ΩΤΑ σε ανθρώπους και ζώα

Η ΩΤΑ προκαλεί σοβαρές παρενέργειες στην υγεία των ανθρώπων και των ζώων λόγω των υψηλών τοξικών ιδιοτήτων της (Marquardt and Frohlich, 1992, Petzinger and Ziegler, 2000). Σε αρκετές χώρες έχει ανιχνευθεί στο ανθρώπινο αίμα ως αποτέλεσμα της κατανάλωσης μολυσμένων τροφίμων (Petkova-Bocharova et al., 1988). Συγκεκριμένα μετά την κατανάλωση μολυσμένων τροφίμων η μυκοτοξίνη δεσμεύεται στη ορολευκωματίνη (Il'ichev et al., 2002). Επιπλέον έχει ανιχνευθεί και στο μητρικό γάλα και στον ορό του βρέφους (Creppy, 1999, Hassan et al., 2006). Στα ζώα είναι ιδιαίτερα τοξική κυρίως λόγω της νεφροτοξικής της δράσης, ενώ θεωρείται μία από τις πιο καρκινογόνες ενώσεις στα ποντίκια και τους αρουραίους (Aish et al., 2004) όπου και μεταβολίζεται σε ωχρατοξίνη α (Εικόνα 1.2.1) (Suzuki et al., 1977, Galtier, 1978).

Επίσης η ΩΤΑ έχει αναφερθεί ότι έχει νεφροτοξική, νευροτοξική μεταλλαξογόνο, τερατογόνο και καρκινογόνο δράση (Creppy et al., 1985, Obrecht-Pflumio et al., 1999, Marquardt & Frohlich, 1992, JECFA, 2001, Lock and Hard, 2004, Galvano et al., 2005, Varga and Kozakiewicz, 2006) ενώ το 1993 το International Agency for Research on Cancer την ενέταξε ως πιθανό καρκινογόνο (group 2B). Επιπλέον η ΩΤΑ έχει συνδεθεί με την ανθρώπινη ασθένεια Βαλκανική Ενδημική Νεφροπάθεια, η οποία αποτελεί μια θανατηφόρα χρόνια νεφρική ασθένεια (Marquardt & Frohlich, 1992, Creppy, 1999).

Η επικινδυνότητα της Ωχρατοξίνης Α σε συνδυασμό με την ημερήσια δόση για έναν ενήλικα οδήγησαν την Ευρωπαϊκή Ένωση στη θέσπιση μέγιστου ορίου. Στην Κοινοτική Οδηγία Νο 123/2005 της 26^{ης} Ιανουαρίου 2005 το μέγιστο όριο Ωχρατοξίνης Α σε οίνο ορίζεται σε 2 $\mu\text{g/kg}$ (δηλαδή 2 ppb = 2 δισεκατομμυριοστά του γραμμαρίου ανά kg οίνου). Στην περίπτωση που κάποιο προϊόν υπερβαίνει τα νομοθετικά όρια θεωρείται ακατάλληλο, αποσύρεται από την αγορά και καταστρέφεται.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΜΕΘΟΔΟΙ ΠΡΟΛΗΨΗΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΠΡΟΒΛΗΜΑΤΩΝ

Α. Πρόληψη

3.1 Γενικές μέθοδοι

Καθώς οι αποικίες των μυκήτων αναπτύσσονται σε διάφορα μέρη των φυτών, οι καλλιέργειες θα πρέπει να προστατεύονται ενάντια στις βλαβερές μηχανικές διεργασίες και στην δράση των εντόμων. Για να αποφεύγεται η μόλυνση των φυτικών προϊόντων, πηγές μόλυνσης όπως ζιζάνια, γεωργικά υπολείμματα ή βρώμικα γεωργικά υλικά θα πρέπει να απομακρύνονται και να καταστρέφονται (Codex Alimentarius Commission, 2003, FAO/WHO/UNEP, 1999a).

Η χρήση χημικών ενώσεων είναι μία πολύ ελκυστική στρατηγική για την πρόληψη παραγωγής των μυκοτοξινών (FAO/WHO/UNEP, 1999b). Συγκεκριμένα στη περίπτωση των σταφυλίων, κάποια μυκητοκτόνα όπως το Switch έχουν βρεθεί αποτελεσματικά στη παρεμπόδιση της ανάπτυξης των μυκήτων και την παραγωγή ΩΤΑ (Varga & kozakiewicz, 2006). Θα πρέπει όμως να ληφθεί υπόψιν ότι τα μυκητοκτόνα θα πρέπει να επιλέγονται με προσοχή, επειδή κάποια όπως π.χ το carbendazim ενώ μείωναν τη ανάπτυξη του μύκητα, βρέθηκαν να συνεισφέρουν στη παραγωγή ΩΤΑ (Medina et al., 2007a).

Οι Bleve et al., (2006) μελέτησαν *in vitro* τη δυνατότητα βιολογική αντιμετώπισης των μυκήτων *A.carbonarius* και *A.niger* με την εφαρμογή επιφυτικών ζυμών. Στη περίπτωση των προϊόντων που μιάνονται μολύνονται από τον *A.carbonarius*, η χημική ένωση ναταμυκίνη εμφανίζεται να αποτελεί μία αποτελεσματική ουσία για τον έλεγχο της ανάπτυξης των μυκήτων και την παραγωγή της ΩΤΑ (Medina et al., 2007b).

3.2 Καλλιεργητικές μέθοδοι

Οι καλλιέργειες στις θερμές περιοχές επηρεάζονται από περιόδους διαφορετικών περιβαλλοντικών συνθηκών. Για αποφυγή μόλυνσης από μύκητες και παραγωγή ΩΤΑ, η υγρασία του φυτού και η καταπόνηση (stress) της ξηρασίας θα

πρέπει να μειώνονται. Κάποιες κατάλληλες στρατηγικές είναι η κατάλληλη άρδευση, η ισορροπημένη ανόργανη θρέψη και λίπανση.

Άλλοι κανόνες ορθής γεωργικής πρακτικής είναι η αμειψισπορά καθώς και η καλλιέργεια και η συγκομιδή σε κατάλληλες συνθήκες και εποχές (ελεύθερος χώρος για κάθε φυτό για μέγιστη ανάπτυξη, αποφυγή ακραίων περιόδων ξηρασίας) και το βαθύ όργωμα (Aldred and Magan, 2004, Codex Alimentarius Commission, 2003).

Ακόμα είναι σημαντικό να ελαχιστοποιείται η ρήξη των καρπών, διότι είναι η οδός μέσω της οποίας ο μύκητας θα βρεθεί στο εσωτερικό του ώριμου καρπού, σε εξαιρετικό περιβάλλον ανάπτυξης, με αποτέλεσμα να επιταχύνεται η σποροποίηση, η οποία θα γινόταν με σχετικά αργό ρυθμό στην εξωτερική επιφάνεια του καρπού.

Η Ορθή Γεωργική Πρακτική κατά την περίοδο της ωρίμανσης είναι σημαντική, ώστε να αποφεύγεται η ρήξη του καρπού, να ελαχιστοποιείται η σήψη η οποία προκαλείται από *Aspergillus* και κατά συνέπεια να μειώνεται η επιμόλυνση από Ωχρατοξίνη Α:

1. Με συστηματικό κλάδεμα, αερισμό των καρπών και αποφυγή συχνής συγκαλλιέργειας μειώνεται η επαφή των καρπών με τη σκόνη ή το έδαφος και αποφεύγεται η επιμόλυνση από *Aspergillus*.
2. Με την εφαρμογή ορθολογικής λίπανσης και σωστής άρδευσης ελαχιστοποιείται η ρήξη του καρπού. Συγκεκριμένα πρέπει να αποφεύγονται μεγάλες διακυμάνσεις στην υγρασία του αμπελιού. Η βροχή πριν την συγκομιδή είναι επίσης πολύ συχνά η αιτία επιμόλυνσης.
3. Η καταστροφή των καρπών από πουλιά έντομα ή άλλους μύκητες είναι ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει ρήξη του καρπού και κατ'επέκταση τη σήψη, η οποία προκαλείται από *Aspergillus*.
4. Η αποτελεσματική καταπολέμηση των εντόμων που προκαλούν φθορά στον καρπό, όπως η 2 γενιά Ευδεμίδας (*Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae)) έχει αποδειχθεί ότι μειώνει την προσβολή στο εσωτερικό του καρπού.
5. Η συστηματική καταπολέμηση των άλλων μυκήτων (*Botrytis cinerea* and *Erysiphe necator* (ωίδιο)) που προσβάλλουν το αμπέλι είναι μια καλή πρακτική, αφού με αυτό τον τρόπο μειώνονται οι ελαττωματικοί- εύκολοι στην προσβολή καρποί. Η σήψη από *Aspergillus* μπορεί να ελεγχθεί και με τη χρήση βιολογικών τρόπων καταπολέμησης ή εγκεκριμένων μυκητοκτόνων.

3.3 Αντιμετώπιση κατά τη συγκομιδή

Αρχικά η σωστή εμφάνιση και καθαριότητα του γεωργικού εξοπλισμού συνίσταται προκειμένου να αποφευχθούν όλα τα εμπόδια τα οποία μπορούν να καθυστερήσουν το χρόνο συγκομιδής (Codex Alimentarius Commission, 2003).

Η συγκομιδή θα πρέπει να γίνεται όταν το περιεχόμενο της υγρασίας του φυτού είναι βέλτιστο, εξασφαλίζοντας τις ελάχιστες μηχανικές ζημιές στο προϊόν (Codex Alimentarius Commission, 2003).

Όσο το δυνατόν αργότερα, μόνο τα ώριμα προϊόντα θα πρέπει να συλλέγονται χωρίς μόλυνση. Τα υπερώριμα, τα ζυμούμενα, τα αλλοιωμένα ή αυτά που έχουν πέσει στο έδαφος θα πρέπει να απορρίπτονται και να καταστρέφονται έξω από το χωράφι, τα οποία είναι πιθανόν να περιέχουν υψηλές συγκεντρώσεις ΩΤΑ ή μύκητες που παράγουν ΩΤΑ (Belli et al., 2007a, Bucheli & Taniwaki, 2002, Paulino de Moraes & Luchese, 2003, Perez de Obanos et al., 2005). Επίσης δεν ενδείκνυται η ανάμιξη με κακής ποιότητας προϊόντα ή άλλα αγροτικά προϊόντα (Lopez-Garcia et al., 2008).

3.4 Μετασυλλεκτικές μέθοδοι

Η πρόληψη είναι η καλύτερη μέθοδος για έλεγχο της μίανσης των τροφίμων με μυκοτοξίνη πριν τη συγκομιδή. Όμως η μίανση που γίνεται ή παραμένει κατά τη φάση αυτή και οι κίνδυνοι που συσχετίζονται με τις τοξίνες θα πρέπει να αντιμετωπίζονται μετά τη συγκομιδή.

Μετά τη συγκομιδή, η αποθήκευση και η επεξεργασία είναι οι κύριες διεργασίες όπου η μίανση μπορεί να προληφθεί και στη δεύτερη περίπτωση η μείωση της ΩΤΑ μπορεί να επιτευχθεί με φυσικό διαχωρισμό ή χημική αδρανοποίηση μέσα από συγκεκριμένες διαδικασίες (FAO/WHO/UNEP, 1999c).

3.4.1 Αποθήκευση και μεταφορά

Για σταφύλια

Η αποθήκευση είναι μία από τη πιο κρίσιμες φάσεις μετά τη συγκομιδή όσον αφορά το χειρισμό του προϊόντος. Ακατάλληλες περιβαλλοντικές συνθήκες, μη

σωστή συσκευασία ή αλλοιωμένα προϊόντα μπορεί να προκαλέσουν μείωση του προϊόντος με μυκοτοξίνη κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης (FAO/WHO/UNEP, 1999c).

Η αποθήκευση θα πρέπει να γίνεται κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες υγρασίας και θερμοκρασίας (FAO/WHO/UNEP, 1999a, Quillien, 2002). Κατά τη διάρκεια αυτής της φάσης είναι σημαντική η αποφυγή αύξησης της υγρασίας του προϊόντος (FAO/WHO/UNEP, 1999c, Lopez-Garcia et al., 2008). Είναι σημαντικό να αποθηκεύονται τα προϊόντα τα οποία είναι πλήρως αποξηραμένα και να διατηρούνται σε μια $aw < 0.70$ και σε θερμοκρασίες κάτω από 20°C (Bucheli & Taniwaki, 2002, Magan et al., 2003), ή στη περίπτωση των μη συσκευασμένων τροφίμων σε θερμοκρασίες κάτω από 2-3°C (Codex Alimentarius Commission, 2003). Επιπλέον συνίσταται η χρήση μεταλλικών κιβωτίων απ'ότι ξύλινων (Bankole & Adebajo, 2003).

Πριν την επόμενη συγκομιδή, οι αποθήκες θα πρέπει να καθαρίζονται με σκοπό την αποφυγή μελλοντικής αλλοίωσης του προϊόντος (Bankole & Adebajo, 2003, Scudamore et al., 1999).

Όλες οι παραπάνω συνθήκες θα πρέπει να ελέγχονται κατά τη διάρκεια της μεταφοράς σε εισαγόμενες χώρες καθώς και στα φυτά που μεταφέρονται (FAO/WHO/UNEP, 1999b). Κανονικά η διακίνηση σε εισαγόμενες χώρες γίνεται με πλοίο, όπου η περιεκτικότητα σε υγρασία είναι πολύ υψηλή και η παρουσία εντόμων και τρωκτικών είναι πολύ συχνή. Γι'αυτό είναι σημαντική η ελαχιστοποίηση του χρόνου μεταφοράς και η αποφυγή έκθεσης για πολύ ώρα στον ήλιο των προϊόντων που βρίσκονται σε κιβώτια (FAO, 2006). Οι χώροι αποθήκευσης του πλοίου θα πρέπει να διατηρούνται καθαροί και απολυμασμένοι ενώ θα πρέπει να υπάρχουν κατάλληλες συνθήκες υγρασίας (Codex Alimentarius Commission, 2003).

Τέλος τα κιβώτια θα πρέπει να βρίσκονται μακριά από τοίχους και τα σακιά να τοποθετούνται σε παλέτες πάνω από το πάτωμα, για να αποφεύγεται η επανύγρανση του προϊόντος (FAO, 2006).

Για κρασί

Οι χειρισμοί μετά τη συγκομιδή του κρασιού με μυκητοκτόνα όπως Azoxystrobin, Switch ή Scala έχουν δείξει ικανοποιητικά αποτελέσματα ενάντια στην ΩΤΑ (Varga & Kozakiewicz, 2006)

Η επιμόλυνση κρασιού με Ωχρατοξίνη Α είναι συνάρτηση πολλών και πολλές φορές μη ελεγχόμενων περιβαλλοντικών παραγόντων. Για τη μείωση της συγκέντρωσης Ωχρατοξίνης Α στο τελικό προϊόν είναι απαραίτητος ο έλεγχος των συνθηκών κατά την οινοποίηση:

1. Διαλογή των σταφυλίων πριν την σύνθλιψη
με σκοπό τη μείωση των επιμολυσμένων
σταφυλίων που συμμετέχουν στην
οινοποίηση.
2. Προγραμματισμός του τρύγου και
ελαχιστοποίηση του χρόνου αναμονής των
σταφυλίων από τη συγκομιδή στην έκθλιψη.
3. Διατήρηση, κατά το δυνατόν, συνθηκών που
δεν ευνοούν την ανάπτυξη μυκήτων κατά
τη διάρκεια της εκχύλισης, κυρίως όταν πρόκειται
για ερυθρή οινοποίηση.

Κατά τη διάρκεια της οινοποίησης η χρήση διάφορων τεχνικών πολλές φορές καταλήγει στη μείωση της επιμόλυνσης από Ωχρατοξίνη Α. Έχει διαπιστωθεί ότι η χρήση των χημικών παραγόντων επεξεργασίας ή διαύγασης όπως ενεργός άνθρακας, καζεϊνικό Κ, αλβουμίνη και ζελατίνη απορροφούν μέρος της Ωχρατοξίνης Α και την καταβυθίζουν με αποτέλεσμα να μειώνεται η ποσότητα Ωχρατοξίνης Α στο τελικό προϊόν.

Συνεπώς, η τήρηση ορθής γεωργικής πρακτικής και η εφαρμογή ενός συστήματος HACCP κατά τη διάρκεια της οινοποίησης, μπορεί να φανεί χρήσιμη:

1. στον έλεγχο του σχηματισμού και της
συγκέντρωσης Ωχρατοξίνης Α στο τελικό
προϊόν, ώστε να μην υπερβαίνονται τα
νόμιμα όρια
2. στην εφαρμογή μέτρων ιχνηλασιμότητας
στην περίπτωση υπέρβασης.

3.4.2 Επεξεργασία

Μετά τις φάσεις της συγκομιδής ένα προϊόν υφίσταται πολλές αλλαγές κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας. Σε αυτό το στάδιο οι μυκοτοξίνες θα πρέπει να εξαλείφονται ή να αναστέλλεται ο σχηματισμός τους (FAO/WHO/UNEP, 1999c).

Στις βιομηχανίες συνίσταται η εγκαθίδρυση ενός συστήματος αξιολόγησης των προμηθευτών, με σκοπό την προμήθεια των πρώτων υλών στις βέλτιστες συνθήκες, όχι μόνο των προϊόντων που μεταφέρονται αλλά και όλων των σχετικών παραπροϊόντων (Aldred & Magan, 2004, FAO/WHO/UNEP, 1999c).

Στα αρχικά στάδια της μεταφοράς είναι απαραίτητος ο καθαρισμός και η συλλογή των αλλοιωμένων προϊόντων και σε μετέπειτα στάδια η θερμική και χημική αδρανοποίηση.

Επιπλέον το περιεχόμενο της υγρασίας, ο αερισμός και η καθαριότητα θα πρέπει να ελέγχονται συνεχώς και σωστά σε όλα τα στάδια της επεξεργασίας του προϊόντος (EMAN, 2003, EMAN, 2004, FAO/WHO/UNEP, 1999c).

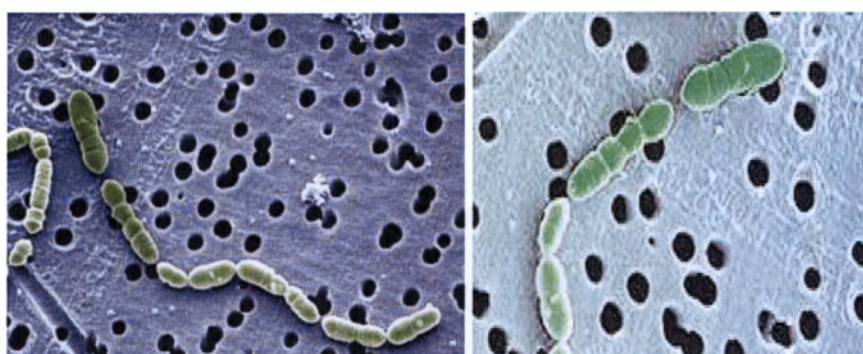
B. Αντιμετώπιση προβλημάτων

3.5 Γενικές μέθοδοι μείωσης ΩΤΑ

Οι στρατηγικές μείωσης της ΩΤΑ ταξινομούνται με βάση το είδος του χειρισμού (φυσικός, χημικός ή μικροβιολογικός) και ο κύριος σκοπός είναι η μείωση ή εξάλειψη των τοξικών αποτελεσμάτων της ΩΤΑ, μέσω της καταστροφής, της μετατροπής ή της απορρόφησης της μυκοτοξίνης (FAO/WHO/UNEP, 1999a). Η ιδανική μέθοδος μείωσης της ΩΤΑ θα πρέπει να είναι εύκολη στη χρήση της και οικονομική και δεν θα πρέπει να παράγει τοξικές ενώσεις ή να μεταβάλλει τα χαρακτηριστικά του τροφίμου, όπως τα θρεπτικά συστατικά (EMAN, 2004). Συνεπώς, αρχικά εξετάζεται η δυνατότητα μείωσης της τοξίνης στα διάφορα στάδια επεξεργασίας (Park, et al., 1999) και στη περίπτωση που αυτό δεν καταστεί δυνατό, εφαρμόζονται άλλοι επιπρόσθετοι χειρισμοί (φυσικοί, χημικοί ή μικροβιολογικοί).

Κατά τη διάρκεια παραγωγής κρασιού, η συγκέντρωση της ΩΤΑ αυξάνεται μέχρις ότου η μηλογαλακτική ζύμωση προηγείται τη εμφιαλώσεως. Σε αυτό το στάδιο, τα επίπεδα της μυκοτοξίνης μειώνονται, πιθανόν λόγω της προσρόφησης της στην επιφάνεια των ζυμών του γένους *Saccharomyces* και στην αλληλεπίδρασή της με τους μεταβολίτες που παράγονται από τις ζύμες, ή στη ικανότητα αποδόμησης

από τα οξυγαλακτικά βακτήρια που βρίσκονται στο κρασί (Bejaoui et al., 2004, Cecchini et al., 2006, Fernandes et al., 2007, ICV, 2002). Το *Oenococcus oeni* (Εικόνα 3.5) (παλιά *Leuconostoc oenos*) (Kunkee, 1967, Wibowo et al., 1985) είναι ένα οξυγαλακτικό βακτήριο το οποίο θεωρείται υπεύθυνο για τη μηλογαλακτική ζύμωση στο κρασί, συντελεί στη βελτίωση της ποιότητας του και επιπλέον στη μείωση της ΩΤΑ (Maicas et al., 2002, Mateo et al., 2009). Είναι ένα από τα πιο ανθεκτικά στελέχη στις δυσμενείς συνθήκες του κρασιού (χαμηλό pH, αιθανόλη, κ.α). Επίσης διεργασίες όπως το πλύσιμο των σταφυλιών, το μαγείρεμα και το πατίκωμα μπορεί να συντελέσουν στη μείωση της συγκέντρωσης της ωχρατοξίνης (Delage et al., 2003, Ratola et al., 2005).



Εικόνα 3.5: Το οξυγαλακτικό βακτήριο *Oenococcus oeni*.

Κατά τη διάρκεια παραγωγής σταφυλοχυμού, απαιτείται πολύ καλή ξήρανση και αναποδογύρισμα επειδή σε αυτά τα στάδια τα επίπεδα των σακχάρων και της υγρασίας συνεισφέρουν στην ανάπτυξη του μύκητα *Aspergillus* και στη παραγωγή ωχρατοξίνης (Magan & Aldred, 2005).

3.6 Φυσικές μέθοδοι

Με σκοπό να μειωθεί η συγκέντρωση μιας τοξίνης σε ένα προϊόν δεν επιτρέπεται η ανάμιξή της και η αραίωση της με προϊόντα που δεν περιέχουν τοξίνη. Γι'αυτό και στην Ευρωπαϊκή ένωση απαγορεύεται η αραίωση με μη μολυσμένα τρόφιμα (Directive, 2002/32/EC).

Με σκοπό την αποφυγή μίανσης με ΩΤΑ, μελετήθηκε η δυνατότητα απομάκρυνσης των εξωτερικών μερών των τροφίμων τα οποία έρχονται σε επαφή με

τους μύκητες (Alldrick, 1996). Όμως στη περίπτωση των σιτηρών και των σταφυλιών αυτή η εφαρμογή αποδείχθηκε πολύπλοκη και απορρίφθηκε.

Επίσης μελετήθηκε και η δυνατότητα εξάλειψης όλων εκείνων των προϊόντων στα οποία έχουν αναπτυχθεί μύκητες κατά την βιομηχανική διεργασία. Όμως η απουσία των μυκήτων δεν υπονοεί ότι η μυκοτοξίνη και η μίανση δεν μπορούν να ελεγχθούν πλήρως (FAO/WHO/UNEP, 1999c, Heilman et al., 1999).

Ενώ οι θερμικοί χειρισμοί δεν εξαλείφουν πλήρως την ΩΤΑ (Boundra, & Le Bars, 1995), χειρισμοί όπως κατάψυξη στους -20°C, απόψυξη στους 26°C, και χρησιμοποίηση UV και η γ ακτινοβολίας μπορούν να συντελέσουν στη μείωση της παραγωγής κονιδίων. Παρ'όλα αυτά όμως μόνο η χρήση γ ακτινοβολίας μπορεί να εξαλείψει τη μυκοτοξίνη (Aziz et al., 2004, Deberghes et al., 1993, Deberghes et al., 1995).

3.7 Χημικές μέθοδοι

3.7.1 Χημικές ενώσεις προσρόφησης

Για την μείωση της ωχρατοξίνης με χημικές ενώσεις, πολλά προσροφητικά υλικά έχουν εξεταστεί όπως το ενεργό κάρβουνο, οι ζεολίτες, ο μπετονίτης, και τρίμματα ξύλου (Bauer, 1994, Leong et al., 2006, Peteri et al., 2007, Plank et al., 1990, Ringot et al., 2007, Savino et al., 2007, Varga & Kazakiewicz, 2006). Ορισμένα από τα παραπάνω έχουν μελετηθεί και σε πειραματόζωα, όμως η μείωση της τοξίνης δεν ήταν τόσο υψηλή όσο αναμενόταν, εκτός από το ενεργό κάρβουνο (Huwing et al., 2001, Scott, 1996). Σε αυτή τη περίπτωση η χρήση τους απορρίφθηκε λόγω της απορρόφησης των απαραίτητων θρεπτικών συστατικών και της δηλητηρίασης των ζώων (Gambut et al., 2005, Huwing et al., 2001).

Στο κρασί, το καζεινούχο κάλιο και το ενεργό κάρβουνο υποβαθμίζουν την ποιότητα του κρασιού, παρόλο που έχουν δείξει θετικά αποτελέσματα όσον αφορά τη μείωση της ΩΤΑ (>82%) (Abrunhosa et al., 2002, Castellari et al., 2001).

Μια καινούρια αδιάλυτη φυτική ίνα έχει χρησιμοποιηθεί με σκοπό την προσρόφηση της ΩΤΑ που βρίσκεται σε υγρά τρόφιμα και συγκεκριμένα στη μπίρα κατά τη διάρκεια της ζύμωσης (Tangni et al., 2005).

Επί του παρόντος, τα πιο ελπιδοφόρα προσροφητικά υλικά είναι οι τροποποιημένοι ζεολίτες, οι οποίοι επιτυγχάνουν καλή απολύμανση των τροφίμων

(Dakovic et al., 2003, Dakovic et al., 2005, Schall et al., 2002, Tomasevic et al., 2003).

3.7.2 Αποδόμηση της ΩΤΑ ή εκχύλιση της με χημικούς Παράγοντες

Στα σταφύλια και στο κρασί έχει αποδειχθεί ότι κάποια μυκητοκτόνα, ζιζανιοκτόνα και εντομοκτόνα συντελούν στη μείωση της ΩΤΑ (>90%) (Belli et al., 2007b, Reddy,& Muralidharan, 2007, Valero et al., 2007b, Varga & Kozakiewicz, 2006).

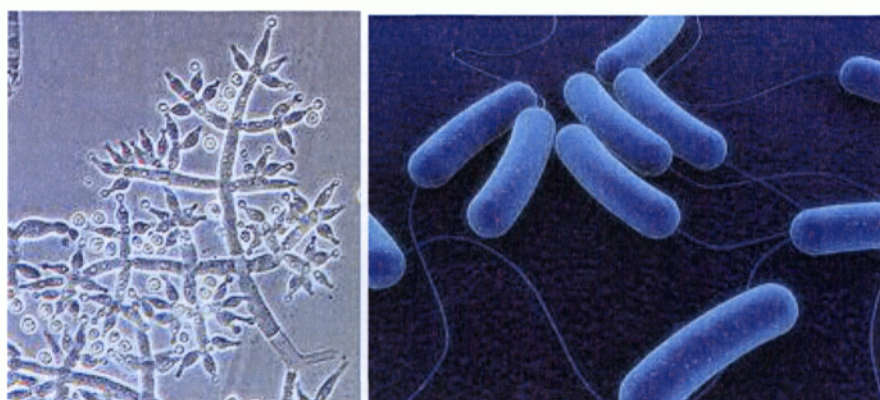
3.8 Βιολογικός έλεγχος ωχρατοξινογόνων μυκήτων

3.8.1 Γενικά

Με τον όρο βιολογικός έλεγχος (biocontrol) εννοούμε τη χρήση βιολογικών παραγόντων με σκοπό τον έλεγχο των ζιζανίων ή των παθογόνων των φυτών. Αυτή η προσέγγιση έχει θεωρηθεί από την επιστημονική κοινότητα σαν μία αξιόπιστη εναλλακτική μέθοδος αντί της χρησιμοποίησης φυτοφαρμάκων πριν και μετά την συγκομιδή πολλών αγροτικών προϊόντων. Η βιολογική αντιμετώπιση αφενός μεν είναι απαραίτητη για τον έλεγχο της ανάπτυξης των μυκήτων στα σταφύλια, αφετέρου δε συντελεί στη μείωση των αγροχημικών υπολειμμάτων στα σταφύλια, στο κρασί και στα συναφή προϊόντα (Cabras et al., 1999, Cabras and Angioni, 2000).

Πολλές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί σχετικά με την βιολογική αντιμετώπιση μυκήτων των γενών *Aspergillus* και *Penicillium* στα αμπέλια εφαρμόζοντας μικτές καλλιέργειες μικροοργανισμών πριν και μετά τη συγκομιδή των σταφυλιών (Rivka & Nachman, 2008). Συγκεκριμένα ανάμεσα στους μικροοργανισμούς που έχουν καταγραφεί ως αποτελεσματικοί συμπεριλαμβάνονται οι εξής: *Trichoderma harzianum* (Εικόνα 3.2.4.1) (Elad, 1994), *Aureobasidium pullulans* (Lima et al., 1997), *Pythium periplocum* (Paul, 1999), *Metschnikowia fructicola* (Karabulut et al., 2003), πολλές ζύμες (Wilson et al., 1991, Zahavi et al., 2000) και ο *Bacillus subtilis* (Εικόνα 4.1) (Pusey, 1989). Ωστόσο όμως κανένας από τους παραπάνω μικροοργανισμούς δεν βρέθηκε μεμονωμένα να είναι αποτελεσματικός. Όμως σε πρόσφατα πειράματα, έχει βρεθεί ότι κάποια στελέχη

Aspergillus pullulans έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν την ανάπτυξη του μύκητα *A.carbonarius* (προκαλεί σήψη σε σταφύλια) ακόμα και κάτω από ευνοϊκές για την ανάπτυξη του μύκητα συνθήκες. Για τα συγκεκριμένα στελέχη βρέθηκε ότι σε θρεπτικά υποστρώματα (*in vitro*) δύναται να αποδομούν την ΩΤΑ και να τη μετατρέπουν σε μια λιγότερη τοξική ένωση την ωχρατοξίνη α. Επιπλέον σε προσβεβλημένα από μύκητες σταφύλια στα οποία έγινε εφαρμογή βιολογικών παραγόντων, ανιχνεύτηκε μικρότερη συγκέντρωση ΩΤΑ σε σχέση με τα σταφύλια στα οποία δεν εφαρμόστηκε βιολογική αντιμετώπιση (De Felice et al., 2007). Επίσης ανιχνεύτηκε και ωχρατοξίνη α, όμως δεν μπορούσε να εξακριβωθεί η προέλευση της.



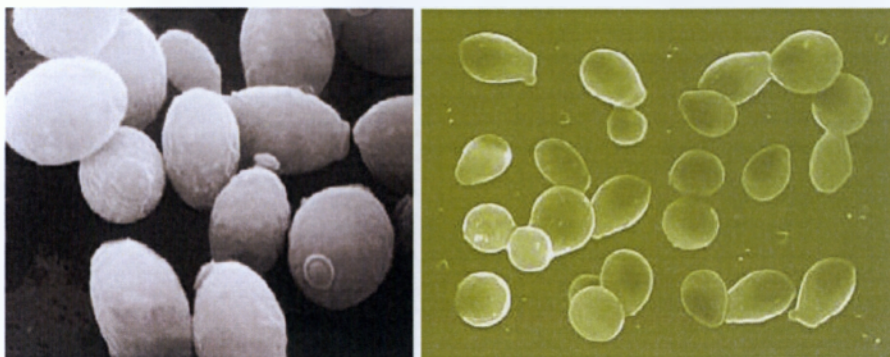
Εικόνα 3.8.1.1: Ο μύκητας *Trichoderma harzianum* (αριστερά) και το βακτήριο *Bacillus subtilis* (δεξιά).

Η βιολογική αντιμετώπιση με μικροοργανισμούς μπορεί να αναστείλει την ανάπτυξη των μυκήτων χωρίς να μειώσει την μεταβολική ικανότητα της ενεργής υφής. Ο ανταγωνισμός μεταξύ των μικροοργανισμών για βασικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως τα θρεπτικά στοιχεία και ο ελεύθερος χώρος, έχει καθοριστική επίδραση στο δευτερογενή μεταβολισμό των μυκήτων. Συγκεκριμένα, πολλές μελέτες έχουν καταγράψει τον ανταγωνισμό για θρεπτικά συστατικά μεταξύ ζυμών και μυκήτων (Chalutz et al., 1988, Bjornberg and Schnurer, 1993, Chand-Goyal and Spotts, 1996). Στη πραγματικότητα, η διαθεσιμότητα των θρεπτικών επηρεάζει σημαντικά το δευτερογενή μεταβολισμό και κατ'επέκταση την παραγωγή της τοξίνης (Luchese and Harrigan, 1993). Οι «μαύροι *Aspergilli*» είναι χαρακτηριστικοί αντιπρόσωποι της μικροχλωρίδας στα σταφύλια και της υψηλής παραγωγής ωχρατοξίνης, η οποία απομονώνεται από το μαύρο τμήμα που υπάρχει (Cabanas et al., 2002, Battiliani et al., 2003). Συνήθως είναι αδύνατον να εξαλειφθεί πλήρως η παραγωγή της μυκοτοξίνης στα σταφύλια, κυρίως επειδή είναι υψηλή και

οι μύκητες που την παράγουν αποτελούν αναπόσπαστο μέρος της μικροχλωρίδας που υπάρχει στα σταφύλια, γι' αυτό και πολλές έρευνες στοχεύουν στην ανάπτυξη βιολογικών στρατηγικών αντιμετώπισης με σκοπό τη μείωση της παρουσίας ωχρατοξινογόνων μυκήτων σε πολλά προϊόντα (Bhatnagar et al., 2002, Gianluca et al., 2005).

Ακόμα η καρβοξυπεπτιδάση Α είναι ένα ένζυμο το οποίο είναι ικανό να μειώσει την ΩΤΑ (Deberghes et al., 1995) και γι' αυτό το λόγο έχει μελετηθεί η χρήση μη τοξινογόνων στελεχών *A.niger* σαν πηγές καρβοξυπεπτιδάσης (Varga, et al., 2000). Άλλα ένζυμα τα οποία μπορούν να απομονωθούν από στελέχη *A.niger* και μπορούν αποτελεσματικά να αποδομήσουν την ΩΤΑ είναι οι λιπάσες (Stander et al., 2000), ένα ακατέργαστο ένζυμο (Abrunhosa et al., 2006) και ένα μεταλλοένζυμο (Abrunhosa & Venancio, 2007). Η ύπαρξη της καρβοξυπεπτιδάσης στη ζύμη *Phaffia rhodozyma* μπορεί να συντελέσει στην μείωση της ΩΤΑ πάνω από 95% (Peteri et al., 2007).

Επιπλέον συγκεκριμένα στελέχη βακτηρίων που ανήκουν στα γένη *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Butyribrio*, *Phenyllobacterium* (*P. immobile*), *Pleurotus*, *Saccharomyces*, *Bacillus* και *Acinetobacter* (*A. calcoaceticus*) (Fucks et al., 2008, Varga et al., 2005, Varga et al., 2000, Hwang & Draughon, 1994, Piotrowska & Zakowska, 2005) και συγκεκριμένοι μύκητες που ανήκουν στα γένη *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *A. niger*, *A. carbonarius*, *A. japonicus*, *A. versicolor*, *A. wentii*, *A. ochraceus*), *Alternaria*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Phaffia*, *Penicillium* και *Rhizopus* (*R. Stolonifer* και *R. oryzae*) (Abrunhosa et al., 2002, Peteri et al., 2007, Varga et al., 2005) επιδεικνύουν μείωση της ΩΤΑ in vitro σε ποσοστό πάνω από 95%. Επίσης, κάποιοι από τους παραπάνω μικροοργανισμούς μπορούν να μειώσουν την ΩΤΑ και σε in vivo πειράματα (Fuchs et al., 2008). Ακόμα οι ζύμες *Saccharomyces cerevisiae* (Εικόνα 3.2.4.2) έχουν την ικανότητα να συντελούν στη μείωση της ΩΤΑ (Bejaoui et al., 2004).



Εικόνα 3.8.1.2: Ζύμες του είδους *Saccharomyces cerevisiae*.

Στη βιομηχανία η μικροβιολογική διεργασία η οποία μειώνει τη συγκέντρωση της ΩΤΑ χρησιμοποιείται στη τελική ζύμωση της μύρας (Chu et al., 1975, Krogh et al., 1974) και στη μηλογαλακτική ζύμωση παραγωγής κρασιού (ICV, 2002).

3.8.2 Μείωση της ΩΤΑ από βακτήρια

Τα οξυγαλακτικά βακτήρια λόγω των υψηλών τους θρεπτικών απαιτήσεων, απαντώνται σε πλούσια σε θρεπτικά συστατικά τρόφιμα όπως γαλακτοκομικά προϊόντα, προϊόντα κρέατος και δημητριακά (Carr et al., 2002). Τα συγκεκριμένα οξυγαλακτικά ανήκουν κυρίως στα γένη *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* και *Pediococcus* (Πίνακας 4.2.3) και συνήθως χρησιμοποιούνται σαν βιολογικοί παράγοντες για την πρόληψη της αλλοίωσης και την επιμήκυνση της χρονικής διάρκειας των τροφίμων και των ζωοτροφών.

Σύμφωνα με τους Magnuson et al., (2003), η αντιμικροβιακή αποτελεσματικότητα των οξυγαλακτικών βακτηρίων οφείλεται κυρίως σε τρεις μηχανισμούς: στον ανταγωνισμό για θρεπτικά συστατικά, στην παραγωγή αντιμικροβιακών ενώσεων και στην αποτελεσματικότητα του οργανικού οξέος. Πολλά στελέχη οξυγαλακτικών βακτηρίων όπως το *Lactococcus lactis subsp. lactis*, το *Lc. lactis subsp. cremoris*, το *Lc. lactis subsp. diacetylactis*, το *Lactobacillus acidophilus*, το *Lactobacillus plantarum* και το *Lactobacillus curvatu* μπορούν να παράγουν πεπτίδια ή αντιμικροβιακές πρωτεΐνες, γνωστές και ως βακτηριοσίνες, οι οποίες επιδεικνύουν αντικροβιακή δράση κατά στελεχών, τα οποία σχετίζονται στενά σε σχέση με αυτά. Επιπλέον πολλά οξυγαλακτικά βακτήρια έχουν αντιμικροβιακές ιδιότητες εναντίον μυκοτοξινογόνων μυκήτων. Συγκεκριμένα τα οξυγαλακτικά βακτήρια που ανήκουν στα γένη *Lactococcus* και *Lactobacillus*

μπορούν να αναστείλουν περισσότερο την ανάπτυξη μυκοτοξινογόνων μυκήτων σε σχέση με αυτά που ανήκουν στα γένη *Leuconostoc* και *Pediococcus*.

Πίνακας 3.8.2: Οξυγαλακτικά βακτήρια ικανά να αναστέλλουν την ανάπτυξη ωχρατοξινογόνων μυκήτων (Dalie et al., 2009).

LAB	Activity spectrum	References
Genus Lactococcus		
<i>Lc. lactis</i> C10	<i>A. parasiticus</i>	Wiseman and Marth (1981)
<i>Lc. lactis</i>	<i>A. flavus</i>	Coallier-Ascah and Idziak (1985)
<i>Lc. lactis</i>	<i>A. parasiticus</i>	Luchese and Harrigan (1990)
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i> DRCI	<i>A. fumigatus</i> , <i>A. parasiticus</i>	Batish et al. (1989)
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>Lactis</i> CHD 28.3	<i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>Fusarium</i> spp.	Roy et al. (1996)
<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	<i>P. expansum</i>	Florianowicz (2001)
Genus Lactobacillus		
<i>Lb. acidophilus</i> R	<i>A. fumigatus</i>	Batish et al. (1990)
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>Rhamnosus</i>	<i>Penicillium</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp.	Suzuki et al. (1991)
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i> LC. 705	<i>A. niger</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Penicillium</i> spp.	Mäyrä-Mäkinen et al. (1994)
<i>Lb. casei</i> subsp. <i>pseudopantarum</i>	<i>A. flavus</i>	Gourama and Bullerman (1995, 1997)
<i>Lb. casei</i>	<i>Penicillium</i>	Gourama (1997)
<i>Lb. casei</i>	<i>P. expansum</i>	Florianowicz (2001)
<i>Lb. coryniformis</i> subsp. <i>coryniformis</i> Si3	Broad spectrum	Magnusson and Schnürer (2001)
<i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>P. expansum</i>	Florianowicz (2001)
<i>Lb. plantarum</i>	<i>Penicillium</i> spp.,	

	<i>Aspergillus</i> <i>spp.</i>	Suzuki et al. (1991)
<i>Lb. plantarum</i> VTT E-78076	<i>F. avenaceum</i>	Niku-Paavola et al. (1999)
<i>Lb. plantarum</i>	<i>P. corylophilum</i> , <i>P. roqueforti</i> , <i>P. expansum</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. flavus</i> , <i>F. graminearum</i>	Lavermicocca et al. (2000)
<i>Lb. plantarum</i> MiLAB 393	<i>F. sporotrichioides</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. nidulans</i>	Ström et al. (2002, 2005)
<i>Lb. Plantarum</i> MiLAB 14	<i>P. roqueforti</i> , <i>P. commune</i> , <i>A. nidulans</i> , <i>A. fumigatus</i>	Sjögren et al. (2003)
<i>Lb. plantarum</i>	<i>A. flavus</i> , <i>F. graminearum</i>	Sathe et al. (2007)
<i>Lb. reuteri</i> 1100	<i>F. graminearum</i>	Gerez et al. (2009)
<i>Lb. rhamnosus</i>	<i>Penicillium spp.</i> , <i>Aspergillus</i> <i>spp.</i> , <i>Fusarium spp.</i>	Stiles et al. (2002)
<i>Lb. sanfranciscensis</i> CBI	<i>Fusarium spp.</i> , <i>Penicillium</i> , <i>spp.</i> , <i>Aspergillus spp.</i>	Corsetti et al. (1998)
Genus Leuconostoc		
<i>Ln. mesenteroides</i>	<i>Penicillium spp.</i> , <i>Aspergillus</i> <i>spp.</i>	Suzuki et al. (1991)
Genus Pediococcus		
<i>Pc. acidilactici</i> LAB 5	<i>A. fumigatus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>Penicillium spp.</i>	Mandal et al. (2007)
<i>Pc. pentosaceus</i>	<i>P. expansum</i>	Rouse et al. (2008)

3.8.3 Μείωση της ΩΤΑ από ζύμες

Οι ζύμες έχουν πολλά χαρακτηριστικά τα οποία τις καθιστούν επιθυμητούς βιολογικούς παράγοντες στα φρούτα και σε άλλα προϊόντα. Ανάμεσα στα πλεονεκτήματα τους αναφέρονται ότι έχουν απλές θρεπτικές απαιτήσεις, αναπτύσσονται σε ζυμωτήρες με φθηνά θρεπτικά μέσα και παράγουν ενώσεις μη τοξικές για τον άνθρωπο καθώς επίσης μπορούν και επιβιώνουν και σε ένα μεγάλο εύρος περιβαλλοντικών συνθηκών (Wilson and Wisniewsky, 1989). Σε διάφορες μελέτες που έχουν γίνει, ανταγωνιστικές ζύμες υπέδειξαν την ικανότητα μείωσης της ανάπτυξης νηματοειδών αλλοιογόνων μυκήτων τόσο σε *in vitro* όσο και *in vivo* μελέτες (McGuire, 1994, Petersson and Schnurer, 1995).

Πολλές διαδικασίες έχουν αναπτυχθεί για την απομάκρυνση των μυκοτοξινών, χρησιμοποιώντας ζύμες (Stanley et al., 1993, Bauer, 1994, Scott et al., 1995, Devegowda et al., 1996, 1998, Baptista et al., 2004, Bejaoui et al., 2004, Caridi et al., 2004b, 2005a,b, 2006a), κυτταρικά τοιχώματα ζυμών (Huwig et al., 2001, Santin et al., 2003, Yiannikouris et al., 2003, Ringot et al., 2005), ή εκχυλίσματα κυτταρικών τοιχωμάτων ζυμών (Devegowda et al., 1996, Zaghini et al., 1998, Howes and Newman, 2000, Raju and Devegowda, 2000, Baptista et al., 2004, Ringot et al., 2005). Οι μαννοπρωτεΐνες (Bauer, 1994) παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία μείωσης της ΩΤΑ, που οφείλεται στη δέσμευση της μυκοτοξίνης από ένα ολιγοσακχαρίτη (mannanoligosaccharide), που βρίσκεται στη κυτταρικό τοίχωμα της ζύμης *S.cerevisiae* (Devegowda et al., 1996). Συγκεκριμένα η μείωση της ΩΤΑ βασίζεται σε ένα αυτόματο (Ringot et al., 2005) μηχανισμό απορρόφησης (Bejaoui et al., 2004) όπου οι μαννοπρωτεΐνες δρουν σαν ένα «σφουγγάρι».

Το περιεχόμενο της τοξίνης στα κρασιά μειώνεται πάρα πολύ από γηγενείς ζύμες. Σε έρευνες που έχει μελετηθεί η δυνατότητα μείωσης της ΩΤΑ κατά τη διάρκεια παρασκευής κρασιού, έχουν καταγραφεί αξιοσημείωτες διαφορές ανάμεσα σε ζύμες του κρασιού του γένους *Saccharomyces* (Caridi et al., 2006b) και σε ζύμες άλλων γενών (Cecchini et al., 2006). Αυτό οφείλεται αφενός στο διαφορετικό περιεχόμενο σε «mannosylphosphate» των μαννοπρωτεϊνών των ζυμών του κρασιού αλλά και αφετέρου στη διαφορετική ζύμωση, κυτταρική καθίζηση, κυτταρική διάσπαση και στην κροκύδωση (Caridi, 2007).

Η ανταγωνιστική ζύμη επίσης *Pichia anomala*, έχει δείξει να μειώνει *in vitro* την ανάπτυξη του *Penicillium roquefortii* και του *Aspergillus candidus* (Petersson and Schnurer, 1995)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4. ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ ΜΥΚΟΤΟΞΙΝΩΝ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΟΤΕΡΑ ΤΗΣ ΩΤΑ

Η παρουσία υψηλής τοξικότητας πολλών μυκοτοξινών σε συνδυασμό με την σημερινή ανάγκη για υγιεινά, ποιοτικά και κυρίως ασφαλή τρόφιμα έχει οδηγήσει τις εποπτικές αρχές που σχετίζονται με την ποιότητα των τροφίμων τόσο στον εγχώριο Ελλαδικό όσο και στον διεθνή χώρο στον καθορισμό ανώτατων επιτρεπτών ορίων.

Οι μυκοτοξίνες ήταν για τα τελευταία χρόνια, οι κύριοι επιμολυντές στο Σύστημα Ταχείας Προειδοποίησης για Ανασφαλή Τρόφιμα και Ζωοτροφές (RASFF) που είναι ακρωνύμιο του Rapid Alert System for Food and Feed φθάνοντας τα 993 περιστατικά. Οι περισσότερες περιπτώσεις αφορούσαν τις αφλατοξίνες και δευτερευόντως την ωχρατοξίνη Α. Σαν ένας από τους σημαντικότερους αναδυόμενους διατροφικούς κινδύνους, η παρουσία μυκοτοξινών είναι σημαντικό να ελέγχεται σε όλα τα στάδια (από το χωράφι μέχρι την τελική κατανάλωση). (FAO, 2004).

Η Ευρωπαϊκή Ένωση θέσπισε σειρά νομοθετημάτων για την λύση του προβλήματος.

1. Κανονισμός 466/ 2001 για μυκοτοξίνες και βαρέα μέταλλα

2. Κανονισμός 472/2002-αναθεώρηση του (ΕΚ) αριθ. 466/2001

Με τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 472/2002 της Επιτροπής της 12ης Μαρτίου 2002 τροποποιείται ο κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 466/2001 για τον καθορισμό μέγιστων τιμών ανοχής για ορισμένες προσμείξεις στα τρόφιμα και παράλληλα θεσπίζονται ανώτερα επιτρεπτά όρια ωχρατοξίνης Α σε δημητριακά, προϊόντα δημητριακών και σταφίδες.

3. Κανονισμός 683/ 2004 για Αφλατοξίνες και Ωχρατοξίνη σε βρεφικές και παιδικές τροφές

Ο συγκεκριμένος κανονισμός αποτελεί τροποποίηση του τελευταίου (472/2002) και καθορίζει τα επίπεδα ωχρατοξίνης Α σε τρόφιμα που προορίζονται για βρέφη και νήπια. Στον κανονισμό αυτόν σαν κυριότερες πηγές πρόσληψης αναγνωρίζονται τα δημητριακά και τα προϊόντα δημητριακών ενώ οι σταφίδες (κορινθιακή, ξανθή και σουλτανίνα) θεωρούνται υψηλού βαθμού περιεκτικότητας. Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δοθεί στο τελευταίο τρόφιμο αφού οι σταφίδες αποτελούν σημαντική διατροφική πηγή για τα παιδιά.

4. Κανονισμός 123/ 2005 για ωχρατοξίνη Α σε οίνους

Με τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ.123/2005 της Επιτροπής, της 26ης Ιανουαρίου 2005, γίνεται τροποποίηση του κανονισμού (ΕΚ) αριθ.466/2001, όσον αφορά την *ωχρατοξίνη Α* καθορίζοντας ως νέο ανώτατο επιτρεπτό όριο τα 2 ppb για το κρασί, τον χυμό σταφυλιού και τα σταφύλια.

5. Κανονισμός 1881/ 2006

Με τον παραπάνω κανονισμό της επιτροπής της 19ης Δεκεμβρίου 2006 καθορίστηκαν νέα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα για ορισμένες ουσίες (ανάμεσά τους και η *ωχρατοξίνη Α*), οι οποίες επιμολύνουν τα τρόφιμα όπως τα δημητριακά, τα προϊόντα δημητριακών, τις σταφίδες, τον φρυγμένο καφέ, το κρασί, τον χυμό σταφυλιών και τα τρόφιμα για βρέφη και μικρά παιδιά, όλα εκ των οποίων συμβάλλουν σημαντικά στη γενική έκθεση του ανθρώπου στην ΟΤΑ ή στην έκθεση των ευάλωτων ομάδων καταναλωτών, όπως τα παιδιά. (Πίνακας 5.1)

Αρχικά είχε προταθεί ως προσωρινή ανεκτή εβδομαδιαία πρόσληψη των 100 ng/kg σωματικού βάρους, περίπου δηλαδή 14 ng/kg κατά βάρος σώματος ανά ημέρα (WHO/FAO Joint Expert Committee on Food Additives, JECFA, 1996a).

Στις 4 Απριλίου 2006 όμως η ευρωπαϊκή αρχή για την ασφάλεια των τροφίμων (ΕΑΑΤ) εξέδωσε επικαιροποιημένη επιστημονική γνώμη σχετικά με την *ωχρατοξίνη Α* στα τρόφιμα, λαμβάνοντας υπόψη τις νέες επιστημονικές πληροφορίες και έθεσε ένα ανεκτό όριο εβδομαδιαίας πρόσληψης (ΑΟΕΠ) ύψους 120 ng/kg σ. β.

Πίνακας 4: Μέγιστα επιτρεπτά όρια ΟΤΑ (Καν.1881/2006).

Ωχρατοξίνη Α	Μέγιστα επιτρεπτά όρια (ppb)
Μη μεταποιημένα δημητριακά	5,0
Όλα τα προϊόντα που παράγονται από μη μεταποιημένα δημητριακά, συμπεριλαμβανομένων των μεταποιημένων προϊόντων με βάση τα δημητριακά και των δημητριακών που προορίζονται για άμεση κατανάλωση από τον άνθρωπο, εξαιρουμένων των τροφίμων όσων προορίζονται για βρέφη	3,0
Σταφίδες (κορινθιακή, ξανθή σταφίδα)	10,0

και σουλτανίνα)	
Φρυγμένοι κόκκοι καφέ και φρυγμένος και αλεσμένος καφές, εξαιρουμένου του διαλυτού καφέ	5,0
Διαλυτός καφές (στιγμιαίος καφές)	10,0
Οίνοι (συμπεριλαμβανομένων των αφρωδών οίνων, εξαιρουμένων των οίνων λικέρ και των οίνων με αλκοολικό τίτλο όχι μικρότερο του 15 % vol) και ποτά που προέρχονται από ζύμωση φρούτων	2,0
Αρωματισμένοι οίνοι, αρωματισμένα ποτά με βάση τον οίνο και αρωματισμένα κοκτέιλ αμπελοοινικών προϊόντων	2,0
Χυμός σταφυλιών, συμπυκνωμένος χυμός σταφυλιών, όπως αυτός ανασυστάθηκε, νέκταρ σταφυλιών, γλεύκος σταφυλιών και συμπυκνωμένος γλεύκος σταφυλιών όπως αυτός ανασυστάθηκε, οι οποίοι προορίζονται για άμεση κατανάλωση από τον άνθρωπο	2,0
Μεταποιημένα τρόφιμα με βάση τα δημητριακά και παιδικές τροφές για βρέφη και μικρά παιδιά	0,50
Διαιτητικά τρόφιμα για ειδικούς ιατρικούς σκοπούς που προορίζονται ειδικά για βρέφη	0,50
Ωμός καφές, ξηρά φρούτα εκτός από τις σταφίδες, μπίρα, κακάο και προϊόντα με βάση το κακάο, λικέρ, προϊόντα με βάση το κρέας, καρυκεύματα και γλυκόριζα	—

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η μόλυνση των σταφυλιών από ωχρατοξινογόνους μύκητες αποτελεί ένα πολύ σοβαρό θέμα. Η ΩΤΑ είναι ένας αρκετά σοβαρός κίνδυνος για τους ανθρώπου και δει για τα μικρά παιδιά αν εισέλθει στον οργανισμό τους μιας κι έχουν πιο αδύναμο ανοσοποιητικό σύστημα.

Ο μύκητας που προσβάλλει πιο συχνά τα σταφύλια και αρκετά ανθεκτικός είναι ο *A.carbonarius*.

Η βιολογική αντιμετώπιση τοξινογόνων μυκήτων με τη χρήση ανταγωνιστικών παραγόντων όπως βακτηρίων και ζυμών αποτελεί μεταξύ άλλων μία αποτελεσματική στρατηγική για τη μείωση της ΩΤΑ στα τρόφιμα. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι τα γαλακτικά βακτήρια αναστέλλουν την ανάπτυξη τοξινογόνων μυκήτων.

Αν και η μέθοδος χρήσης στηλών ανοσοσυγγένειας είναι η πιο διαδεδομένη μέθοδος ανίχνευσης ωχρατοξίνης Α, υπάρχουν ακόμα περιθώρια έρευνας και εύρεσης νέων και πιο αποτελεσματικών τεχνικών ανίχνευσης και καταπολέμησης, κάτι το οποίο είναι αναγκαίο μιας και η ΩΤΑ είναι τόσο επικίνδυνη για τον ανθρώπινο οργανισμό.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Είδη

Belli, N., Mari/n, S., Sanchis, V., and Ramos, A.J. (2002). Review: ochratoxin A (OTA) in wines, musts and grape juices: Occurrence, regulations and samples of analysis. *Food Sci. Technol. Int.*, 8, 325–35.

Abarca, M.L., Accensi, F., Bragulat, M.R., and Cabanes, F.J. (2001). Current importance of ochratoxin A-producing, *Aspergillus spp.* *J. Food Prot.*, 6, 903–6.

Benford, D., Boyle, C., Dekant, W., et al. (2001). Ochratoxin A. In *Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food*, pp. 281–415. FAO Food and Nutrition Paper 74 / WHO Food Additives Series 47, WHO, Geneva, Switzerland.

JEFCA, 2001, JEFCA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). *Ochratoxin A. In: Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food. WHO Food Additives Ser 47, FAO Food and Nutrition Paper 74. WHO, Geneva 2001, 366.*

Codex Alimentarius Commission, (1998). Position paper on ochratoxin A. Codex Committee on Food Additives and Contaminants thirty-first session, 22–26 March, CX/FAC 99/14, The Hague, The Netherlands.

Zimmerli, B., & Dick, R. (1996). Ochratoxin A in table wine and grape juice: occurrence and risk assessment. *Food Additives and Contaminants*, 13, 655–668.

Aish, J.L., Rippon, E.H., Barlow, T., and Hattersley, S.L. (2004). Ochratoxin A. In *Mycotoxins in Food: Detection and Control* (N. Magan and M. Olsen, eds), pp. 307–38. Cambridge, England: Woodhead Publishing Ltd.

Bankole, S. A., & Adebajo, A. (2003). Mycotoxins in food in West Africa: Current situation and possibilities of controlling it. *African Journal of Biotechnology*, 2, 254–263.

Bauer, J. (1994). Möglichkeiten zur Entgiftung Mykotoxinhaltiger Futtermittel. *Monatshefte für Veterinarmedizin*, 49, 175–181.

Reddy, K. R. N., Reddy, C. S., & Muralidharan, K. (2007). Exploration of ochratoxin A contamination and its management in rice. *American Journal of Plant Physiology*, 2, 206–213.

Valero, A., Marin, S., Ramos, A. J., & Sanchis, V. (2007b). Effect of preharvest fungicides and interacting fungi on *Aspergillus carbonarius* growth and ochratoxin A synthesis in dehydrating grapes. *Letters in Applied Microbiology*, 45, 194–199.

Varga, J., & Kozakiewicz, Z. (2006). Ochratoxin A in grapes and grape-derived products. *Trends in Food Science and Technology*, 17, 72–81.

Bejaoui, H., Mathieu, F., Taillandier, P., Lebrihi, A., 2004. Ochratoxin A removal in synthetic and natural grape juices by selected oenological *Saccharomyces* strains. *Journal of Applied Microbiology* 97, 1038-1044.

Bucheli, P., & Taniwaki, M. H. (2002). Review. Research on the origin, and on the impact of post-harvest handling and manufacturing on the presence of ochratoxin A in coffee. *Food Additives and Contaminants*, 19, 655–665.

Cabras, R., Angioni, A., Garau, V.L., Pirisi, F.M., Farris, G., Madau, G., Emont, G., 1999. Pesticides in fermentative processes of wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47, 3854–3857.

Carr, F. J., Chill, D., & Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria: A literature survey. *Critical Reviews in Microbiology*, 28, 281–370

Caridi, A., Galvano, F., Tafuri, A., Ritieni, A., 2006a. In-vitro screening of *Saccharomyces* strains for ochratoxin A removal from liquid medium. *Annals of Microbiology* 56, 135–137.

Cecchini, F., Morassut, M., Moruno, E. G., Di Stefano, R., 2006. Influence of yeast strain on ochratoxin content during fermentation of white and red must. *Food Microbiology* 23, 411–417.

Chu, F. S., Chang, C. C., Ashoor, S. H., & Prentice, N. (1975). Stability of aflatoxin B1 and ochratoxin A in brewing. *Applied Microbiology*, 29, 313–316.

Codex Alimentarius Commission, (1998). Position paper on ochratoxin A. Codex Committee on Food Additives and Contaminants thirty-first session, 22–26 March, CX/FAC 99/14, The Hague, The Netherlands.

Codex Alimentarius Commission (2003). Report of the 34th session of the codex committee on food additives and contaminants. Codex Alimentarius Commission Alinorm 03/12 appendix XII, 100–104.

Creppy, E.E. (1999). Human ochratoxins. *J. Toxicol. Toxin Rev.*, 18, 277–93.

Dakovic, A., Tomasevic-Canovic, M., Rottinghaus, G. E., Dondur, V., & Masic, A. (2003). Adsorption of ochratoxin A on octadecyldimethyl benzyl ammonium exchanged-clinoptilolite-heulandite tuff. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 30, 157–165.

De Felice, D.V., Solfrizzo, M., De Curtis, F., et al. (2007). *Aureobasidium pullulans* strains degrade ochratoxin A in vitro and protect wine grape from ochratoxigenic *Aspergillus carbonarius*. *IOBC WPRS Bull.*, 30, 203–7.

Delage, N., d'Harlingue, A., Ceccaldi, B. C., & Bompeix, G. (2003). Occurrence of mycotoxins in fruit juices and wine. *Food Control*, 14, 225–227.

Devegowda, G., Aravind, B.I.R., Morton, M.G., 1996. *Saccharomyces cerevisiae* and mannanoligosaccharides to counteract aflatoxicosis in broilers. Proceedings of the Eighth Australian Poultry Science Symposium, Sydney, Australia, pp. 103–106.

Elad, Y. (1994). Biological control of grape grey mould by *Trichoderma harzianum*. *Crop Prot.*, 13, 35–8.

FAO/WHO/UNEP (1999a). Minimising risks posed by mycotoxins utilising the HACCP Concept. Third Joint FAO/WHO/UNEP International Conference On Mycotoxins, 8 b, 1–13. Available at: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/myco8b.pdf> (accession date: 2008/03/10).

FAO/WHO/UNEP (1999b). Mycotoxin prevention and decontamination, corn - a case study. Third Joint FAO/WHO/UNEP International Conference On Mycotoxins, 6b, 1–11. Available at: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/myco6b.pdf> (accession date:2008/03/10).

FAO/WHO/UNEP (1999c). Mycotoxin prevention and

decontamination, HACCP and its mycotoxin control potential: An evaluation of ochratoxin A in coffee production. Third Joint FAO/WHO/UNEP International Conference On Mycotoxins, 6 c.; 1–13. Available at: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/myco6c.pdf> (accession date: 2008/03/10).

Fuchs, S., Sontag, G., Stidl, R., Ehrlich, V., Kundi, M., Knasmüller, S., 2008. Detoxification of patulin and ochratoxin A, two abundant mycotoxins, by lactic acid bacteria. *Food and Chemical Toxicology* 46, 1398–1407.

Gambutì, A., Strollo, D., Genovese, A., Ugliano, M., Ritieni, A., & Moio, L. (2005). Influence of enological practices on ochratoxin A concentration in wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56, 155–162.

Huwing, A., Freimund, S., Kappeli O., Dutler H., 2001. Mycotoxin detoxication of animal feed by different adsorbent. *Toxicology Letters* 122, 179–188.

JEFCA, 2001, JEFCA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). Ochratoxin A. In: Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food. WHO Food Additives Ser 47, *FAO Food and Nutrition Paper* 74. WHO, Geneva 2001, 366.

Leong, S. L. L., Hocking, A. D., & Scott, E. S. (2006). The effect of juice clarification, static or rotary fermentation and fining on ochratoxin A in wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 12, 245–252.

Leong, S.L., Hocking, A.D., and Scott, E.S. (2007). *Aspergillus* species producing ochratoxin A: isolation from vineyards soil and infection of Semillon bunches in Australia. *J. Appl. Microbiol.*, 102, 124–33

Magnusson, J., Strom, K., Roos, Sjogren, J., & Schnurer, J. (2003). Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 219, 129–135.

Marquardt R.R., Frohlich A.A (1992). A review of recent advances in understanding ochratoxicosis. *J. anim. Sci.* 70, 3968–3988.

Medina, A., Jimenez, M., Mateo, R., & Magan, N. (2007b). Efficacy of natamycin for control of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* strains under different environmental conditions. *Journal of Applied Microbiology*, 103, 2234–2239

Mitchell, D., Parra, R., Aldred, D., and Magan, N. (2004). Water and temperature relations of growth and ochratoxin A production by *Aspergillus carbonarius* strains from grapes in Europe and Israel. *J. Appl. Microbiol.*, 97, 439–45.

Peteri, Z., Teren, J., Vagvolgyi, C., & Varga, J., 2007. Ochratoxin degradation and adsorption caused by astaxanthin-producing yeasts. *Food Microbiology* 24, 205–210.

Petersson, S., Schnurer, J., 1995. Biocontrol of mould in high-moisture wheat stored under airtight conditions by *Pichia anomala*, *Pichia guilliermondii* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied and Environmental Microbiology* 61, 1027–1032.

Ringot, D., Lerzy, B., Bonhoure, J.P., Auclair, E., Oriol, E., Larondelle, Y., 2005. Effect of temperature on *in vitro* ochratoxin A biosorption onto yeast cell wall derivatives. *Process Biochemistry* 40, 3008-3016.

Rivka, B.G., Nachman, P., (2008). Biological control of patulin and ochratoxin A producing fungi. *Mycotoxins in Fruits and Vegetables* 311-333. Academic Press is an imprint of Elsevier

Varga, J., & Kozakiewicz, Z. (2006). Ochratoxin A in grapes and grape-derived products. *Trends in Food Science and Technology*, 17, 72–81.

Zimmerli, B., & Dick, R. (1996). Ochratoxin A in table wine and grape juice: occurrence and risk assessment. *Food Additives and Contaminants*, 13, 655–668.

Prevention of nephrotoxicity of ochratoxin A, a food contaminant

[http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=-](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=-275283594&sort=r&st=13&view=c&acct=C000228598&version=1&urlVersion=0&userid=10&md5=b2d9dccf86294a7f1d2433a944ad89b2&searchtype=a)

[275283594&sort=r&st=13&view=c&acct=C000228598&version=1&urlVersion=0&userid=10&md5=b2d9dccf86294a7f1d2433a944ad89b2&searchtype=a](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=-275283594&sort=r&st=13&view=c&acct=C000228598&version=1&urlVersion=0&userid=10&md5=b2d9dccf86294a7f1d2433a944ad89b2&searchtype=a)(10/5/2013)

Occurrence of ochratoxin A in wine and ochratoxigenic mycoflora in grapes and dried vine fruits in South America

[http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=-](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=-275283594&sort=r&st=13&view=c&acct=C000228598&version=1&urlVersion=0&userid=10&md5=b2d9dccf86294a7f1d2433a944ad89b2&searchtype=a)

[275283594&sort=r&st=13&view=c&acct=C000228598&version=1&urlVersion=0&userid=10&md5=b2d9dccf86294a7f1d2433a944ad89b2&searchtype=a](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=-275283594&sort=r&st=13&view=c&acct=C000228598&version=1&urlVersion=0&userid=10&md5=b2d9dccf86294a7f1d2433a944ad89b2&searchtype=a)(10/5/2013)

Grape variety related *trans*-resveratrol induction affects *Aspergillus carbonarius* growth and ochratoxin A biosynthesis

[http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=-](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=-275283594&sort=r&st=13&view=c&acct=C000228598&version=1&urlVersion=0&userid=10&md5=b2d9dccf86294a7f1d2433a944ad89b2&searchtype=a)

[275283594&sort=r&st=13&view=c&acct=C000228598&version=1&urlVersion=0&userid=10&md5=b2d9dccf86294a7f1d2433a944ad89b2&searchtype=a](http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleListURL&_method=list&_ArticleListID=-275283594&sort=r&st=13&view=c&acct=C000228598&version=1&urlVersion=0&userid=10&md5=b2d9dccf86294a7f1d2433a944ad89b2&searchtype=a)(10/5/2013)

Ελληνική

Βαρδαβακή Μανώλη. 1993. Συστηματική βοτανική. ΤΟΜΟΣ 1. Εκδόσεις Δ.Κ. Σαλονικίδης, Θεσσαλονίκη.

Ειρήνη Λιόλιου 2009, Μεταπτυχιακή μελέτη: **ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΖΥΜΩΝ ΚΑΙ ΓΑΛΑΚΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΣΤΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ ΩΧΡΑΤΟΞΙΝΗΣ Α ΣΕ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΘΡΕΠΤΙΚΑ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ ΠΜΣ ‘ ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ’, Γεωπονικό πανεπιστήμιο Αθηνών**

Ιωάννου Η. (2005). Σύγχρονες μέθοδοι ανίχνευσης αλλεργιογόνων και μυκοτοξινών στα τρόφιμα. 1ο Συνέδριο Βιοτεχνολογίας και Τεχνολογίας Τροφίμων.

Κόλιας Ιωάννης 2011, Μεταπτυχιακή διατριβή: **In vitro και in situ μείωση της ωχρατοξίνης Α από βακτήρια και ζύμες τεχνολογικής μικροχλωρίδας**, ΠΜΣ “Επιστήμη και Τεχνολογία Τροφίμων & Διατροφή του Ανθρώπου”, Γεωπονικό πανεπιστήμιο Αθηνών

Νικολάου Ν.Α. 2011. «Αμπελουργία» Εκδόσεις: Σύγχρονη παιδεία
Παναγόπουλος Χρήστος. 2007. **Ασθένειες Καρποφόρων Δένδρων και Αμπέλου**, 4^η έκδοση. Εκδόσεις: Αθ. Σταμούλης. Αθήνα.

Σαββίδης Θωμάς. 2000. «ΟΜΗΡΟΥ ΑΜΠΕΛΟΣ» *ΑΜΠΕΛΟΥΡΓΙΑ, ΟΙΝΟΠΟΙΑ, ΟΙΝΟΠΟΣΙΑ ΣΤΗΝ ΟΜΗΡΙΚΗ ΕΠΟΧΗ*. Εκδοτικός οίκος *Αδερφών Κυριακίδη Α.Ε.*

Τσακίρης Αργύρης. 2011. «Αμπελουργία και οινοποίηση» εκδόσεις: Ψύχαλος

Χατζηιωάννου Θ.Π. (1998). Ενόργανη ανάλυση. Πανεπιστημιακές Σημειώσεις Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών.